1868

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

1868

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XXIII. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens**, Direktor der biologischen Anstalt zu Dahlem-Berlin. Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XXIII. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 12 Tafeln und 105 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1909.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 1/5.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Poids moléculaire et la forme des corps.
Travail du poids moléculaire.

Par **Michel Yégounow**, St. Pétersbourg.

Avec 8 figures.

Le travail actuel est la suite de mes autres travaux, publiés dans les Comptes rendus de l'Académie des Sciences, dans le Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. etc. Il est écrit — je veux le noter pro domo sua — en partie à Genève (sept.—octobre 1907), en partie à Paris (janvier—février 1908). Je suppose dans le lecteur la connaissance de la géométrie analytique et l'analyse.

On sait que le mouvement de la matière par la diffusion se passe d'après la loi Stefan: $h = a\sqrt{t}$, où h est l'espace parcouru par la substance diffusante; t le temps et a une constante à determiner par l'expérience, constante propre pour chaque substance et pour chaque concentration. J'ai trouvé le rapport qui existe entre la constante a et la concentration p d'une côté, et entre a et le poids moléculaire M, d'autre côté. Les formules que j'ai donné[1]) sont applicables, chacune dans les limites déterminées, sur l'étendue de $^1/_1$ jusqu'à $^1/_{200}$ de la concentration normale (N).

Mes recherches sur la foule microbienne[2]) et surtout sur la croissance des colonies des microorganismes ont demontré que la forme et le poids moléculaire, ces deux choses „qui paraissent si éloignées l'une de l'autre sont, en fait, en rapports intimes“[3]). D'après la forme d'une colonie qui croît dans le champs de diffusion d'une substance on peut déterminer le poids moléculaire de cette substance. „Dans la forme même de la colonie est renfermée la loi mathématique de son origine ainsi que les propriétés et la forme de la cause agissante.“ Le rôle du poids moléculaire n'est pas limité par la domaine de la biologie; il étend beaucoup plus loin, et si je publie ce travail dans le journal biologique, c'est parce qu'il est basé principalement sur les observations biologiques. Pour la généralisation de l'exposition — le sujet le demande — je comprend sous le nom de la substance une substance quelconque ou la colonie qui croît, et sous le corps — le corps solide ou la colonie dont la croissance est limitée par des certaines conditions.

I.

D'après mes recherches sur la diffusion des solutions[4]), la constante a et par conséquent l'espace h, parcouru par la substance diffusante, est la fonction du poids moléculaire M. J'ai trouvé donc,

---

[1]) Compt. rend. de l'Acad. des sciences. T. CXLII et CXLIII. 1906.

[2]) Lois du mouvement de la foule microbienne. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 1.)

[3]) Les réactifs vivants et la diffusion. (Compt. rend. T. CXLV. 1907. p. 263.)

[4]) Compt. rend. T. CXLII et CXLIII. 1906.

$$M = 10\,p\,2^{b-y/m}, \tag{1}$$

où y est a^2 de la solution dont concentration en $^0/_0$ est p; M poids moléculaire; b une constante; m différence entre deux valeurs de y ($= a^2$) avec le dédoublement de la concentration p ou, en général, d'après l'équation (1)

$$m = \frac{(y_1 - y_2)\log 2}{\log\left(\frac{p_1}{p_2}\right)}.$$

En désignant 2^b par C on a de l'équation (1)

$$y = \frac{m}{\log 2}\log\left(\frac{C\cdot 10\,p}{M}\right), \tag{2}$$

et pour l'espace:

$$h = a\sqrt{t} = \sqrt{\frac{m}{\log 2}\log\left(\frac{C\cdot 10\,p}{M}\right)}\cdot\sqrt{t}; \tag{3}$$

t le temps; h l'espace.

Ce rapport entre M et h indique un rôle important et vaste que joue le poids moléculaire dans la création des formes des corps. Il est évident que tous les phénomènes qui se développent dans l'espace et qui dépendent d'une substance, portent en soi l'influence du poids moléculaire et que ce dernier peut être mesuré par ces phénomènes.

L'équation

$$h = f(M) \tag{4}$$

montre en effet que si le corps est le résultat de l'action réciproque de deux substances, sa forme, étant le lieu géométrique de leur rencontre, est déterminée:

1° par la grandeur des paramètres p, M, M^1 etc.,

2° par l'ensemble des équations géométriques des mouvements de ces substances; en d'autres termes, elle dépend de la forme des surfaces qui se meuvent.

II.

Comme on le voit de mes expériences¹), on obtient une grande diversité de formes des colonies microbiennes même dans les conditions les plus simples, où l'influence du poids moléculaire a pu se manifester pleinement et nettement.

Soit une substance (A) s'étend par diffusion à partir de la droite yy (il suffit d'étudier les phénomènes dans le plan yox) et une autre substance (ou la colonie microbienne B) à partir de la circonférence R_0 (Fig. 1), les équations du mouvement: $h = x = a\sqrt{t}$ pour la substance A et $y^2 + (d-x)^2 = (R_0 + c\sqrt{t})^2$ pour la substance B nous donneront l'équation de séctions coniques

$$y^2 + x^2\left(1 - \frac{c^2}{a^2}\right) - 2x\left(d + \frac{R_0}{a}\right) + d^2 - R_0{}^2 = 0 \tag{5}$$

qui détermine la forme du corps; d est la distance oF; y, x les coordonnées; h et h' les espaces occupés par les substances qui diffusent; t le temps; a et c les constantes. Au cas où A et B diffusent à partir

---

1) Les réactifs vivants et la diffusion. (Compt. rend. T. CXLV. 1907. p. 263.)

des points o et F (Fig. 2), on obtiendra des équations $y^2 + x^2 = (a\sqrt{t})^2$ et $y^2 + (d-x)^2 = (c\sqrt{t})^2$ l'équation

$$y^2\left(1-\frac{c^2}{a^2}\right) + x^2\left(1-\frac{c^2}{a^2}\right) - 2\,dx + d^2 = o, \tag{6}$$

qui est l'équation de la série des circonférences a, a', a'' etc. et c, c', c'' etc., et une droite (si a = c): $x = \frac{d}{2}$.

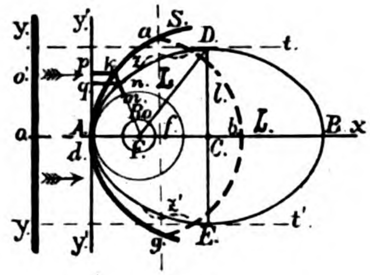


Fig. 1.

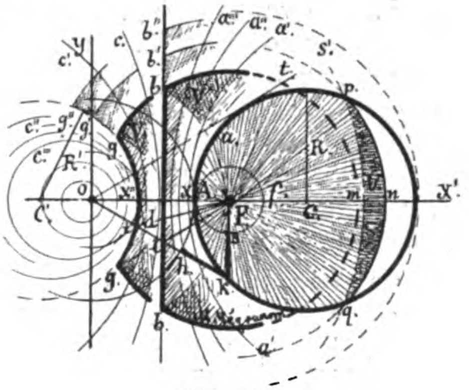


Fig. 2.

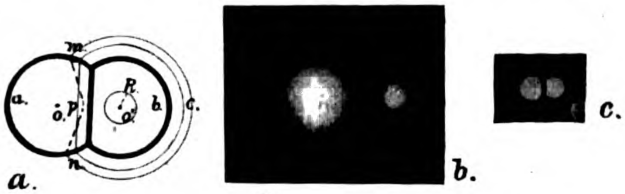


Fig. 3.

Les figures correspondant à un arrêt de croissance causé par les produits de l'échange (Fig. 3 b, moisissure et une colonie microbienne) ou à une rencontre (concrescence) des colonies microbiennes (Fig. 3 c) surtout suivant une ligne droite se voient fréquemment dans les cultures sur plaques; si la croissance de la colonie (de son rayon) est directement proportionelle à la racine carrée du temps ($R = \sqrt{R_0{}^2 + c^2t}$), la ligne de rencontre est une droite (Fig. 3 a), que la croissance ait débuté simultanément ou non: il suffit que a = c. En effet, les équations de la croissance: $x^2 + y^2 = (\sqrt{R_1{}^2 + a^2t})^2$ et $y^2 + (d-x)^2 = (\sqrt{R_0{}^2 + c^2t})^2$, où R_0 et R_1 sont les rayons, donnent l'équation semblable à l'équation (6):

$$y^2\left(1-\frac{c^2}{a^2}\right) + x^2\left(1-\frac{c^2}{a^2}\right) - 2\,dx + d^2 - R_0{}^2 + \frac{c^2}{a^2}R_1{}^2 = o. \tag{6a}$$

Dans le cas où a = c on a une droite $x = \frac{d}{2} + \frac{c^2R_1{}^2 - a^2R_0{}^2}{2\,a^2d}$.

Mais si la croissance est uniforme[1]), ce qui est particulièrement fréquent chez les champignons, on obtient une droite lorsque la croissance des colonies débute en même temps; dans le cas contraire, la ligne de la concrescence est une courbe (Fig. 3, mpn). Les sphérocristaux de

---

[1]) C'est là, d'après mes recherches, la loi fondamentale de la croissance. Il est évident que, toutes choses étant égales, l'accroissement du rayon (R) d'une colonie quelconque est une grandeur-constante, que ce soit la colonie: linéaire, superficielle ou à trois dimensions: $\frac{dR}{dt} = c$. Tout autre type de la croissance est la suite de la violation de cette loi par les influences différentes (produits de l'échange, les changements physiques et chimiques du milieu, sa résistance etc.).

$CaCO^3$ donnent, comme je l'ai souvent observé dans les cultures de microorganismes, des formes de concrescence semblables. C'est ainsi qu'à un moment donné t la forme du corps est présentée par une courbe aAg (Fig. 1) ou pxq (Fig. 2); pendant ce temps la substance A se répand jusqu'à la droite ag (Fig. 1) ou à la distance du rayon om (Fig. 2); la substance B se répand à la distance du rayon Fb ou Fn; si B est une colonie, agb ou pmqn représentent une couche vivante (v) se trouvant en dehors de l'action de la substance A qui n'est pas encore arrivée jusque là. Suivant le rapport existant entre a et c, on obtient une des sections coniques (Fig. 1), ou bien des corps limités par la droite b, b', b'' (a = c) ou par des arcs des cercles gg', a, a', c, c' etc. (Fig. 2). Il est clair que les équations (5) et (6) exprimeront les formes des corps dans les limites où les substances A et B se rencontrent, c'est à dire dans les limites des tangentes t, t'.

Les colonies qui croissent uniformement ($R = R_0 + ct$) donnent dans le champs de diffusion un grand nombre de formes. Si la substance diffuse à partir d'un point o on obtient des équations $x^2 + y^2 = (a\sqrt{t})^2$ (substance) et $y^2 + (d-x)^2 = (R_0 + ct)^2$ (colonie) une courbe

$$(7) \qquad y^4 \frac{c^2}{a^4} + y^2 \left(\frac{2c^2x^2}{a^4} + \frac{2R_0c}{a^2} - 1 \right) + x^4 \frac{c^2}{a^4} + x^2 \left(\frac{2R_0c}{a^2} - 1 \right) + \\ + 2dx - d^2 + R_0^2 = 0.$$

Dans le cas où la substance diffuse à partir d'une droite on obtient avec $x = a\sqrt{t}$ et $y^2 + (d-x)^2 = (R_0 + ct)^2$ une autre courbe qui ressemble à la précédente, mais dont les branches se prolongent à l'infini.

$$(8) \qquad y^2 + x^2 \left(1 - \frac{2cR_0}{a^2} \right) - x^4 \frac{c^2}{a^4} - 2dx + d^2 - R_0^2 = 0.$$

Avec les différents rapports de a et c elles deviennent plus courbées, donnent le point double et se déchirent enfin en deux branches. La figure 4 (a, c) réprésente les formes que prennent les colonies avec l'augmentation de $\frac{a}{c}$; étant entourée par la substance la colonie s'arrêt dans sa croissance (c); b montre l'influence des produits de l'échange de la moisissure o' sur la moisissure o (d'après la photographie).

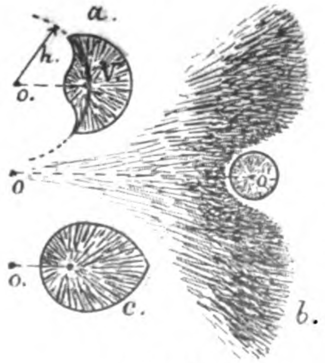


Fig. 4.

III.

La diversité des formes augmente considérablement même en présence de plusieurs centres ou surfaces à partir desquelles les substances se répandent; leur position réciproque détermine le développement des formes dans un sens ou dans un autre, la formation des unités ou des leurs groupes et leur disposition. On voit ici se manifester d'une façon particulièrement nette l'influence du poids moléculaire; l'expérience suivante nous le montre. Une solution aqueuse à 20% de K^4FeCy^6 diffuse à partir de la surface A, a, a', c (Fig. 5; agrandiss. $^9/_{10}$), dans de la gélatine à 10%; d'autre part $CuSO^4$ ($^1/_2$ N) diffuse des tubes B et D (on a pris des tubes au lieu de pratiquer des orifices dans les parois). B et D se trouvent à une distance de 8 à 9 mm de la surface de la gélatine; BD = 26 mm. Comme a de $K^4FeCy^6 = 4{,}45$ mm et c de $CuSO^4 = 2{,}0$ mm (t exprimé en heures), nous obtenons deux corps: B et D. Si l'on dispose les substances d'une façon inverse, on aura la forme FF représentée par la Fig. 6. Dans ces conditions a de $K^4FeCy^6 = 3{,}0$ et c de $CuSO^4 = 2{,}9$ mm [1]). D'après h et t trouvés de l'expérience on calcule la constante a; par exemple, $h = 10$ mm; $t =$ 5 heures; d'où $a = \frac{h}{\sqrt{t}} = 4{,}45$; de là d'après $h = 4{,}45\sqrt{t}$ on calcule pour $t = 5$; 10; 22 heures; les valeurs de $h = 9{,}9$; 13,9; 20,7 mm (au lieu de 10; 14; 20 mm). Les points extrêmes A et B (Fig. 1) et les temps correspondants sont calculés par les équations $x = a\sqrt{t}$ et $x = d \pm R \pm c\sqrt{t}$; d'où $x' = \frac{a(d-R)}{a+c}$; $x'' = \frac{a(d+R)}{a-c}$; $t' = \left(\frac{d-R}{a+c}\right)^2$ et $t'' = \left(\frac{d+R}{a-c}\right)^2$ formules valables aussi bien pour les coniques que pour les circonférences.

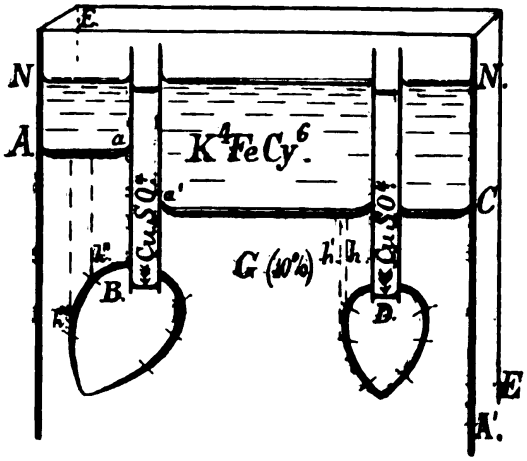


Fig. 5.

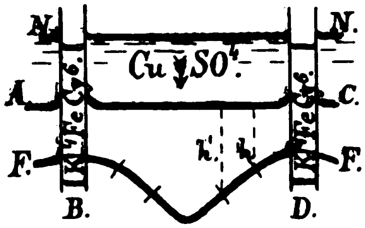


Fig. 6.

IV.

Il est évident qu'en présence d'un corps formé dans ces conditions simples il n'est pas difficile, par sa forme, de déterminer assez exactement les paramètres a et c et, par conséquent, les poids moléculaires M et M' des substances qui ont pris part à sa formation. Il suffit d'étudier le mouvement le long de l'axe des x. Pour les sections coniques (Fig. 1), les équations $x = a\sqrt{t}$ et $x' = d + R_0 + c\sqrt{t}$ donnent [2]): $x = \frac{a(d-R_0)}{a+c}$; $x' = \frac{a(d+R_0)}{a-c}$. De là:

$$AF = d - x = \frac{cd + aR_0}{a+c} = \frac{L(a-c)}{a}.$$

$$L = \frac{x'-x}{2} = \frac{a(cd+aR_0)}{(a+c)(a-c)} = \frac{AF \cdot a}{a-c}.$$

$$f = L - AF = \frac{c(cd+aR_0)}{(a+c)\ a-c)} = L \cdot \frac{c}{a} = L \cdot e.$$

$$l = \sqrt{L^2 - f^2} = L\sqrt{1 - \frac{c^2}{a^2}} = \sqrt{\frac{(cd+aR_0)^2}{a^2-c^2}}.$$

---

[1] Cette différence entre les constantes tient aux conditions différentes de la diffusion de la substance qui part tantôt d'un plan tantôt d'un point; dans ce dernier cas la constante est plus petite, car c'est là un mouvement dans un espace qui s'élargisse.

[2] $x = oA$; $x' = oB$. Voir mon travail: Appareils pour diffusion dans les milieux solides. (Arch. des sciences physiques et naturelles de Genève. 1908. No. 4.)

L'excentricité

$$e = f/L = \frac{c}{a}.$$

L et l sont les demi-axes de l'ellipse; e l'excentricité; f la distance focale (FC); t le temps; R_0, rayon de la circonférence à partir de laquelle B se diffuse.

Comme on voit, l'excentricité e ne dépend ni de la distance d, ni de R_0; cela veut dire qu'avec une valeur donnée de c toutes les formes qui naissent dans un champ de diffusion donné sont homothétiques (semblables les unes sur les autres); telles sont, par exemples, les formes des colonies qui s'accroisent suivant une même loi et dont c a la même valeur numérique. Dans le cas d'une ellipse, il suffit de mesurer ses diamètres 2 L et 2 l; l'excentricité $e = f/L = \frac{\sqrt{L^2 - l^2}}{L^2}$. En déterminant e par les coordonnées on trouve de l'équation (5),

$$e = \frac{c}{a} = \frac{\sqrt{y^2+(d-x)^2} - R_0}{x}.$$

Enfin, pour chaque point de la section conique nous avons: $Fk = c\sqrt{t}$; $Fm = c\sqrt{t'}$; donc $Fk - Fm = c(\sqrt{t} - \sqrt{t'}) = km$; de même: $pk = o'k - o'p = a(\sqrt{t} - \sqrt{t'})$; d'où $\frac{km}{pk} = \frac{c}{a} = e$. Il suffit donc de mener la droite y (Fig. 1) perpendiculairement à l'axe de symmétrie du corps, de déterminer le point F par les méthodes géométriques ou d'après sa structure et de prendre le rapport $\frac{km}{pk}$; connaissant la valeur absolue de c, on détermine a par $e = \frac{c}{a}$.

Pour les corps sphériques on trouve des formules analogues:

$$AF = R\,\frac{(a-c)}{a} = \frac{c\,d + a\,R_0' + c\,R_0}{a+c};$$

$$R = \frac{a(c\,d + a\,R_0' + c\,R_0)}{(a+c)\,(a-c)};$$

$$f = R \cdot \frac{c}{a} = R \cdot e;$$

$$e = f/R = \frac{Fc}{R} = \frac{c}{a} = \frac{sk}{kh} = \frac{di}{i},$$

où R est le rayon du corps; R_0 et R_0' les surfaces à partir desquelles les substances se diffusent (Fig. 2).

Ainsi, dans le cas de section conique on a

$$(9)\quad e^2 = \frac{f^2}{L^2} = \frac{c^2}{a^2} = \frac{L^2-l^2}{L^2} = \frac{\left[\sqrt{y^2+(d-x)^2} - R_0\right]^2}{x^2} = \frac{km^2}{pk^2} = \frac{c^2 \log 2}{m \log\left(\frac{C\,10\,p}{M}\right)}$$

Dans l'équation (1) y est a^2; en le remplaçant par sa valeur de l'équation (9), nous avons

$$(10)\qquad M = 10\,p\,2^{b-\frac{c^2}{me^2}} = 10\,p\,2^{b-\frac{c^2 L^2}{m(L^2-l^2)}} =$$

$$10\,p\,2^{b-\frac{c^2x^2}{m\sqrt{y^2+(d-x)^2-R_0{}^2}}} = \text{etc.}$$

A l'aide de l'équation (9) on détermine la forme du corps d'après le poids moléculaire, et à l'aide de l'équation (10) le poids moléculaire M d'après la forme du corps. L'équation (9) nous montre les moyens pratiques employés pour déterminer l'excentricité e; on peut ajouter encore que l'aplatissement de l'ellipse $\alpha = \frac{L-l}{L}$; d'où: $e^2 = 2\alpha - \alpha^2$; si α est très petit, il suffit d'admettre que $e^2 = 2\alpha$.

On obtient des équations analogues pour les corps sphériques.

Telles sont les formes qu'on obtient dans les conditions les plus simples. Dans la nature, cependant, elles sont beaucoup plus complexes. Nous avons ici le contraire de ce qui a lieu dans l'astronomie; là la forme ou la trajectoire du corps et la première chose qui saute aux yeux et parle des forces agissantes et l'isotropie du milieu laisse aux surfaces de niveau la forme sphérique. Ici, au contraire, les conditions les plus simples sont nécessaires pour constater l'influence du poids moléculaire; c'est dans la suite seulement qu'on peut l'étendre à tous les phénomènes et la considérer comme obligatoire, qu'il soit possible ou à jamais impossible de la constater directement. Mais il est clair que l'influence du poids moléculaire se manifeste partout où a lieu la diffusion: dans les milieux stagnants; dans les milieux en mouvement entre les éléments de leurs surfaces; dans les couches en contact avec les surfaces des corps en formation; dans la diffusion des corps solides l'un dans l'autre etc. C'est dans ce sens que je dis: donnez moi un corps et je déterminerai le poids moléculaire d'après sa forme.

V.

Dans le domaine de la géologie et de la minéralogie nous trouvons de nombreux exemples où on pourrait chercher l'influence du poids moléculaire (par. ex. les concrétions, les oolithes de différentes origines et composition, etc.). J'ai eu l'occasion d'observer en présence de processus micro-biologiques les déplacements des substances telles que FeS, $Fe^2(OH)^6$, $Si(OH)^2$, MnS, $CaCO^3$, NiS, CuS etc. et de les forcer à s'amasser dans des endroits déterminés d'avance et de prendre des formes déterminées, par ex. des petits cylindres de $Fe^2(OH)^6$ etc.; MnS formait des couches (glumelles) pulpeuses de structure grenue visible même à de faibles agrandissements; $CaCO^3$ donnait de petits grains, des paturons, de gros grains ressemblant aux grains de blé, des oolithes en divers degrés de formation [1]. Enfin dans le domaine de la biologie nous trouvons des foules organisées des microorganismes libres et mobiles; ce sont de vraies sociétés basées sur un principe purement mécanique [2]; c'est pourquoi on peut s'attendre ici à une des manifestations le plus perceptible de l'influence du poids moléculaire. On peut s'en faire une idée en changeant la concentration p des substances nutritives O^2 ou H^2S (par conséq. et la valeur de a), car il est impossible de les remplacer par d'autres. Ainsi l'augmentation de la concentration de O^2 produit la condensation des accumulations des microbes suivie de toutes ses conséquences: raccourcissement des fontaines, des entonnoirs etc. Après la destruction de la plaque microbienne en masses nébuleuses les bactéries commencent la reconstituer; elles s'accumulent en sphères, en filaments qui se divisent immédiatement en petites sphères, en surfaces fermées; puis, pendant la période d'extension toutes ces formations s'augmentent, se transforment en sphères creuses, se confondent les unes avec les autres et s'ouvrant de différentes façons reformant la plaque. L'observation donne, par exemple, pour la sphère A (fig. 7, D):

---

[1] Annuaire géologique et minéralogique de la Russie. T. II. 1897. Livr. 8. [En russe et en allemand.] Je n'ai pas encore écrit de $CaCO^3$ et de la structure microscopique des formations, que j'ai observé.

[2] Les sulfobactéries des limans d'Odessa. (Arch. de scienc. biolog. [St. Pétersbourg]. T. III. 1895. No. 4.) — Lois du mouvement de la foule microbienne. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. 1907.) — Bakteriengesellschaften. (Ibid. Bd. II, III. 1896—1898.) — Die Mechanik und Typen der Teilung der Bakterienscharen. (Ibid. Bd. IV. 1898.)

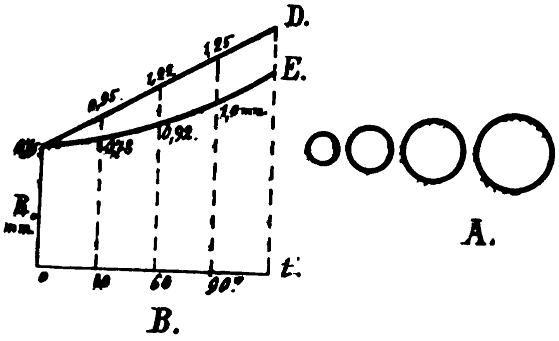


Fig. 7.

t (en secondes)	Rmm (observé)	R (calculé d'après $R = 0{,}75 + 0{,}006\ t$)
0	0,75 mm = R_0	0,75 mm
30	0,95	0,93
60	1,22	1,11
90	1,25	1,29.

Il est évident que la croissance de cette sphère est uniforme: $R = R_0 + ct$; $R_0 = 0{,}75$ mm; $\frac{dR}{dt} = c = \frac{R - R_0}{t}$; c (moyen) = 0,006; par conséq. $R = 0{,}75 + 0{,}006\ t$. Dans la formule (Lois du mouvement, p. 7)

$$\int \frac{nR^{n-1}dR}{F(R)} = \int c dt \tag{11}$$

$\left[F(R) = f\left(\frac{Ne}{S}\right)\right.$, N nombre des organismes, e l'énergie de leur échange, t le temps, S résistance du milieu, c une constante$\left.\right]$, N et e sont constants pour la petite période de l'observation (90"); n = 3 pour la sphère; par conséquent

$$\frac{dR}{dt} = \frac{c^1}{3\,R^2S}\text{; mais dans l'exemple précédent } \frac{dR}{dt} = c;$$

de là, on trouve que la répartition de S est inversement proportionnelle à R^2:

$$S = \frac{c}{R^2}.$$

C'est juste si on ne tient pas compte de la diffusion. Elle augmente la concentration de S; soit pour un moment donné, en absence de la diffusion $S = \frac{c}{R^3}$. Alors, de l'équation (11) on a

$$\frac{dR}{dt} = \frac{c\,R^3}{3\,R^2} = cR\text{; d'où}$$

$$R = Ce^{ct} = R_0e^{ct}. \tag{12}$$

Pour $t = o$, $R = C$, c'est à dire C est le rayon primitif R_0; e est la base des logarithmes naturels = 2,71828.

La croissance pareille se rencontre comme on le voit dans l'exemple suivant (fig. 7, E).

t (en secondes)	R (trouvé)	R (calculé. $R = 0{,}75 \cdot 2{,}718^{0{,}003\,t}$)
0	0,75	0,75 mm
30	0,78	0,82
60	0,92	0,90
90	1,0	0,98.

De l'équation (12) on a : $c = \frac{\lg R - \lg R_0}{t}$; pour c moyen on trouve 0,003; $R_0 = 0{,}75$ mm. Par conséq. $R = 0{,}75 \cdot 2{,}718^{0{,}003\,t}$.

Dans le cas où la décroissement de S va d'une manière encore plus tranchante et devient égale à $\frac{c}{R^4}$, le changement du rayon de la sphère s'exprimera par

$$\frac{dR}{dt} = cR^2;\ \text{d'où}\ R = -\frac{\gamma}{c'\ t + C} = \frac{1}{\frac{1}{R_0} - ct} = \frac{R_0}{1 - R_0 ct}.$$

Comme on peut voir, le changement tout à fait petit de la concentration de S, c'est à dire de la valeur de a provoque le changement de processus: des formes mêmes, de leur grandeur, de leur dencité, de la distance l'un de l'autre; les phases entières peuvent être absentes, comme la formation des filaments etc.[1]). Ainsi dans ces phénomènes aussi comme dans les précédents la forme est la fonction du poids moléculaire.

VI.

Le travail du poids moléculaire, d'ailleurs, est masqué par un grand nombre d'influences puissantes; les influences telles que le mouvement du milieu, les variations de la température, la correction de la forme du champ de diffusion[2]), les variations de la concentration p, causent des irrégularités de la forme du corps, des ondulations de sa surface, comme le montre p. ex. zz' de la fig. 1, et font de la pierre même une matière plastique. C'est ainsi que la forme constitue une sorte d'annales des époques géologiques traversées et peut être des changements du poids moléculaire lui-même.

Soit dans un cas général pour un certain moment toutes ces causes changent la loi du mouvement ($h = a\sqrt{t}$) de la substance A en $h = a\sqrt[n]{t}$, et de la substance B — en $h^1 = c\sqrt[q]{t}$, où n et q sont des nombres ou de certaines expressions complexes. Alors le mouvement de A à partir de l'élément de surface S' ou S" (fig. 8) s'exprimera par $\varrho' = \varrho_0' \mp a\sqrt[n]{t}$, avec le signe — dans le cas où la substance afflue de toutes parts, c'est à dire, de la surface concave S'. Pour B on a: $\varrho = \varrho o + c\sqrt[q]{t}$; d'où la forme du corps F, étant le résultat de l'action réciproque de A et B, se détermine des équations:

---

[1]) Lire dans les «Lois du mouvement» p. 5: «La quantité de substance non utilisée (D) est en relation directe avec les vitesses du mouvement (v) et en relation inverse avec les e et les densités» etc., au lieu: «est directement proportionnelle à la vitesse du mouvement (v) et inversement proportionnelle à e et aux densités» etc.

[2]) La correction de la forme du champ de diffusion est la conséquence directe des rapports existants entre la vitesse d'expansion de la matière diffusante et la forme de l'espace. Le mouvement (d'après mes recherches) est plus lent dans les vases qui s'élargissent et le plus rapide dans ceux qui se rétrecissent. Une surface mouvante de la substance ne reste homothétique que lorsque la substance se répand à partir d'un point (ou d'une surface sphérique) ou d'un plan ou d'une ligne droite indéfiniment étendue. Dans ce cas la forme de la surface mouvante reste toujours semblable à la forme de la surface de départ, c'est à dire à la forme de la sphère, de la surface plane ou de la surface cylindrique. Dans tous les autres cas elle se change et tend à s'approcher de ces trois formes fondamentales.

$$y^2 + (d \pm x)^2 = (\varrho_0' \mp a\sqrt[n]{t})^2 \text{ et } y^2 + x^2 = (\varrho_0 + c\sqrt[q]{t})^2.$$

Comme on le voit des conditions exceptionnellement favorables sont nécessaires pour que le travail du poids moléculaire puisse s'exprimer dans une mesure pouvant être calculé: la stabilité de toutes les conditions et la possibilité de leur mesure quantitative; certains rapports favorables entre les constantes a et c 1) etc. Mais il est évident, quoique ces conditions soient compliqués, le travail du poids moléculaire a lieu partout où il y a un dissolvant 2) et dans la création des formes dans la nature parmi les autres facteurs — gravitation, énergie superficielle etc. — le poids moléculaire a sa part. Par les moyens innombrables la nature écrit son histoire, par les formes éphémères de la foule vivante, par les formes fixes des corps solides, par les formes des êtres vivants de ces vrais champs dynamiques à développement subséquent. Dans le domaine de la forme, tout comme ailleurs, le rôle du hasard est de plus en plus exclus et à coté des grands principes de la conservation de la matière et de l'énergie surgit le principe de la transformation et de la succession des formes.

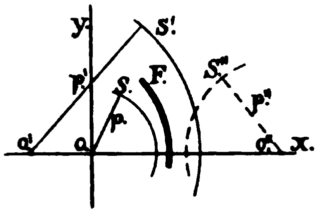


Fig. 8.

Nachdruck verboten.

Ein Ameisensäure bildendes Mycoderma.

Von **M. G. v. Brusendorff,** cand. mag., Kopenhagen.

Im Winter 1905 habe ich von Herrn Dozenten Dr. Kolderup-Rosenvinge eine Pilzkultur empfangen, welche aus St. Croix (Dänisch Westindien) stammte. Dieser hefeähnliche Pilz war hier auf einigen Bataten gefunden worden; ich habe ihn untersucht und dabei einige Eigentümlichkeiten bei seinen Stoffwechselprodukten gefunden, welche mein Interesse erregten.

Der Pilz ist ein Kahmpilz, welcher auf Bierwürze ein derbes, dickes und gefaltetes Häutchen von mehligem, trockenem und gekröseförmigem Aussehen bildet.

Die Haut schiebt sich längs der Seiten des Glases in die Höhe; nach Verlauf einiger Tage bildet sich darauf ein kräftiger Bodensatz. Die Würze bleibt klar.

In anderen Flüssigkeiten gedeiht der Pilz auch, z. B. in Weinmost, wo er auch ein kräftiges Wachstum, ähnlich wie in der Würze, zeigt.

---

1) Par exemple, l'aplatissement $\left(\frac{L-l}{L}\right)$ de Jupiter tout en étant égal à 1/17 est à peine perceptible à l'œil; les aplatissements moindres ne peuvent être constater qu'au moyen d'instruments.

2) On peut admettre qu'exerçant leur influence sur elles mêmes, les propriétés d'espace du poids moléculaire determinent dans une certaine mesure la structure et les propriétés de leur propre molécule.

In Bier und anderen Pflanzendekokten gedeiht er auch, bildet aber keine so charakteristische Haut.

Wachstum auf Gelatine. 3—6 Tage nach der Aussaat erscheinen die Kolonieen auf Würzegelatine und zeigen ein sehr charakteristisches Aussehen: Sie sind kreisrund, anfangs sehr klein und haben ein trockenes, gefaltetes, gekröseförmiges Aussehen, mit sehr erhabenen Falten, liegen sehr lose ihrem Substrate auf und lassen sich sehr leicht abheben. Später bekommen sie ein unregelmäßigeres Aussehen, in der Mitte eine kraterförmige Vertiefung und zeigen sich mehr feuchtglänzend. Nach Verlauf von 3 Wochen verflüssigen sie die Gelatine. Riesenkolonieen auf Gelatine zeigen im großen dasselbe Aussehen, aber die ersten Vorstufen fehlen oft.

Gestalt der Zellen. Die Zellen haben eine ovale, aber sehr oft eine etwas gestreckte Form von hellem, klarem Aussehen und liegen oft zu zweien oder dreien zusammen.

In Pepton- und Asparaginlösungen mit einem Zusatz von Zucker habe ich die Zellen mehr gestreckt und wurstförmig gefunden, sie kommen oft als Ketten, aus 3—4 Individuen bestehend, vor. Die Zellen sind im allgemeinen 5—10 μ lang und 2—5 μ breit. Sporen bildeten sich nie, obgleich große Sorgfalt verwendet wurde, um sie hervorzurufen.

Die Kulturen hatten oft einen saueren Geruch. Anfangs meinte ich, daß dieser Geruch von Essigsäure herrühre, entdeckte aber später zu meinem Erstaunen, daß dies nicht der Fall war.

Die Säure, welche überdestillierte, war nicht Essigsäure, sondern Ameisensäure, sie reduziert sowohl allein, als auch mit Kali oder Natron neutralisiert, salpetersaures Silber. Es ist wohl nicht nötig, anzuführen, daß die Reinheit der Kulturen stets kontrolliert wurde. Zum näheren Studium der Ameisensäurebildung wurde ein systematischer Versuch in Gang gesetzt.

Gerstendekokt, mit Rohrzucker versetzt, und späterhin Bierwürze wurden in einem Erlenmeyerschen Kölbchen mit Kreide gemischt, das Ganze darauf im Kochschen Dampftopf sterilisiert und mit dem Pilze geimpft. Es bildete sich darauf bald ein Häutchen und Bodensatz, und von Zeit zu Zeit stiegen Kohlensäurebläschen an die Oberfläche. Das Gemisch wurde öfters tüchtig geschüttelt, und nach Verlauf zweier Tage bildete sich wieder ein Häutchen. Nach Verlauf von 3 Wochen wurden die Versuche unterbrochen, und die Flüssigkeit wurde mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzt und darauf destilliert. Es bildete sich eine Menge Säure, die sich nun bequem untersuchen ließ. Die Identität mit Ameisensäure wurde konstatiert vermittelst des Vermögens, salpetersaures Silber zu reduzieren. Es konnte sich nicht um eine andere Säure als Ameisensäure handeln. Die Quantität der gebildeten Säure wurde auch in den gewöhnlichen Kulturen mittels Destillation und Titration bestimmt. Die Quantität war sehr klein, nur ca. 0,7—0,8 Proz. In den Kulturen mit Kreide wurde jedoch eine größere Menge erzeugt.

Ameisensäurebildung in zuckerhaltigen Flüssigkeiten ist früher von Brieger beim Fränkelschen Pneumoniebacillus und von Sclavo-Gosio beim Bacillus suaveolens konstatiert.

Der Pilz darf wohl zu der Gtttung Mycoderma gerechnet werden. Ob er eine neue Art ist, muß dahinstehen, weil es mir unmöglich war, ihn zu identifizieren.

Literatur.

Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. VIII. 1884. p. 306.
Sclavo-Gosio, Kochs Jahresbericht. 1891. p. 242.

Nachdruck verboten.

Ueber den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen.

Von Dr. **W. Bierberg,** Geisenheim a. Rh.

Mit 2 Kurven.

Die Frage der Stickstoffernährung der Hefen ist schon eine sehr alte. Bereits im Jahre 1858 machte Pasteur[1]), der mit Liebig damals heftig darüber diskutierte, wie die Alkoholgärung zu deuten sei und wie die Natur der Hefe aufgefaßt werden müsse, die Beobachtung, daß es für die Hefe möglich sei, in einer Nährlösung zu leben und sich zu vermehren, die als Stickstoffquelle lediglich Ammoniumtartrat enthielt. Hieran zweifelte Liebig sehr, und Pasteur machte daher den Vorschlag, er wolle sich verpflichten, in der angegebenen Nährlösung vor einem Vertrauensmanne soviel Hefe zu züchten, wie man vernünftigerweise verlangen könne. Auf Liebigs Standpunkt stellte sich auch Millon[2]), der festgestellt haben wollte, daß mit der Kohlensäure beträchtliche Mengen Ammoniak entwichen, doch er wurde 1864 von Duclaux[3]) widerlegt. Aber für die Pasteursche Auffassung sprachen ferner die Untersuchungen von Leuchs[4]), durch welche die Ammoniaksalze als bessere Stickstoffnahrung für die Hefe erkannt wurden als Albumin und Kleber, und so wagte nun niemand mehr, an der Pasteurschen Auffassung zu zweifeln, daß die Hefe imstande wäre, ihren gegesamten Verbrauch an Stickstoff aus anorganischer Quelle, aus Ammoniumsalzen, zu decken. Gegenteilige Untersuchungen konnten nicht ausbleiben, aber doch wagte man dem althergebrachten Glauben nicht schroff entgegenzutreten, sondern nur ganz schüchtern erklärte man, daß der Gärungsverlauf etwas kräftiger wäre, daß also die Hefeernährung vorteilhafter wäre, wenn man als Stickstoffquelle nicht allein Ammoniumsalze zusetzte, sondern ein stickstoffhaltiges Hefeextrakt. Dies war das Resultat der Untersuchungen von Mayer[5]) und Nägeli[6]). Mayer hatte gefunden, daß allerdings bei Ammoniumsalzen als alleinige Stickstoffquelle eine Vermehrung der Hefe möglich sei, daß dann aber immer eine bedeutend größere Menge Hefe ausgesät werden muß, damit überhaupt eine Vermehrung eintreten kann, als wenn man statt der Ammoniumsalze ein Hefeextrakt als Stickstoffquelle wählt. Zu denselben Resultaten kam Nägeli. Hiermit war man nun an einen gewissen Abschluß der Untersuchungen gekommen. Es verging eine Zeit von 32 Jahren, bevor die Untersuchungen von Mayer und Nägeli und vor allen Dingen ihr Befund, daß bei alleiniger Anwendung von Ammoniumsalzen als Stickstoffquelle eine „bedeutend größere Menge Hefe“ ausgesät werden müsse, um zu einer Gärung zu führen, nachgeprüft und für richtig befunden wurden. Damals gelang Dubrunfaut[7]) der Nachweis, daß tatsächlich Ammoniak als Stickstoffnahrung für die Hefe gebraucht werden kann, daß ihnen aber organische Stickstoffverbindungen doch besser zusagen und daher zeigen die Hefen auch einen größeren Stickstoffgehalt, wenn sie mit letzteren ernährt werden. Zu einem ähnlichen Resultate kam Beijerinck¹). Nach ihm sollten Amide und hauptsächlich Peptone als Stickstoffquellen den Bier- und Weinhefen dienen. Die Kahmhefen sollten dem Ammoniakstickstoff besser angepaßt sein. Petit²) fand, daß „die Bieroberhefen mehr den Amidstickstoff, die Bierunterhefen mehr den Ammoniakstickstoff lieben", und Thomas³) kam zu dem Schluß, daß, wenn organische Stickstoffverbindungen und Ammoniumsalze vorhanden sind, beide von der Hefe angegriffen werden, selbst wenn die organischen Substanzen im Ueberfluß vorhanden sind.

---

[1]) **Pasteur,** Comptes rend. de l'ac. T. XLVII. 1858.

[2]) **Millon,** Comptes rend. de l'ac. T. LVII. 1863; T. LIX. 1864.

[3]) **Duclaux,** Comptes rend. de l'ac. T. LVIII. 1864; T. LIX. 1864.

[4]) Journ. prakt. Chemie. Bd. XCIII. 1864.

[5]) **Mayer,** Untersuchungen über die alkalische Gärung, den Stoffbedarf und den Stoffwechsel der Hefepflanzen. Heidelberg 1869.

[6]) **Nägeli,** Sitz.-Ber. der Bayer. Akad., math.-phys. Kl. Bd. IX. 1879.

[7]) Compt. rend. T. LXXIII. 1871.

Da nun also feststand, daß wirklich die Stickstoff liefernden Stoffe, gleichgültig, ob sie organischer oder anorganischer Natur sind, von den Hefen angegriffen werden, so lag der Schluß nahe, daß dann natürlich diese Substanzen entweder ganz oder teilweise aus der Flüssigkeit bei der Gärung verschwinden müssen. Dieses nachzuweisen gelang zum ersten Male Pasteur³), und dessen Resultate wurden durch Boussingault⁴) bestätigt. Auch Amthor⁵) hatte immer dasselbe Ergebnis, daß die Moste stickstoffhaltiger waren als die Weine. So enthielt z. B. ein Most 0,0321 g Ammoniak und der aus ihm bereitete Wein nur noch 0,000075 g in 100 ccm. Doch ein gleichmäßiges Abnehmen während der Gärung findet nicht statt, sondern es ergibt sich eine Abhängigkeit von der Gärtemperatur, der Zusammensetzung des Mostes, der Art der Hefe und dem Vorhandensein anderer Organismen, wie aus den Arbeiten von Laborde⁶) hervorgeht.

Soweit waren die Untersuchungen gediehen, als endlich die Bestätigung für die bereits erwähnten Angaben von Nägeli und Mayer, daß es sich bei einer Ammoniakstickstoffernährung immer „um die Zuführung einer größeren Anzahl wohlorganisierter Hefeelemente handelt, um eine Gärung zu veranlassen", durch Wildiers⁷) gebracht wurde. Er wies nach, daß in 125 ccm mineralischer Nährlösung, die als Stickstoffquelle lediglich Chlorammonium bot, eine Vermehrung und Gärung nicht eintrat, wenn er nur mit geringer Hefemenge impfte, und zwar mit etwa soviel, als in 2 Tropfen einer in Bierwürze herangezogenen Zucht oder in 0,25—1,0 ccm einer mit der 10-fachen Wassermenge hergestellten Aufschwemmung von Preßhefe entstanden ist. Bei Zusatz einiger Kubikzentimeter einer Hefeabkochung oder von etwas Liebigs Fleischextrakt, Pepton oder Würze treten sie aber ein. Hieraus zieht Wildiers den Schluß, daß Hefe mit anorganischem Stickstoff allein nicht auskommen kann, sondern daß sie zu ihrem Fortkommen noch einen Stoff gebraucht, der seiner Natur und seiner Wirkung nach bisher noch vollkommen unbekannt ist, und dem er den Namen „Bios" gab. Genaue Untersuchungen haben dann ergeben, daß dieser Stoff durch Kochen mit 20-proz. Schwefelsäure zerstört wird, dialysierbar und wasserlöslich ist und man ihn mit kochendem Wasser aus den Hefezellen ausziehen kann.

Da nun also in mineralischer Nährlösung mit Ammoniumsalzen als alleiniger Stickstoffquelle eine Vermehrung der Hefe nicht stattfindet, wenn

---

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XI. 1892.
2) Compt. rend. T. CXXIV. 1897.
3) l. c.
4) Annal. chim. phys. [Sér. 4]. T. VIII. 1866; T. XI. 1867.
5) Zeitschr. angew. Chemie. 1890.
6) Annales de l'Institut Pasteur. T. XII. 1898.
7) La Cellule. T. XVIII. 1901.

nur geringe Mengen ausgesät werden, diese aber eintritt, wenn man einige Kubikzentimeter Hefeabkochung zugibt, in welcher natürlich das Bios enthalten ist, so schrieb man zuerst diesem Stoffe die Wirkung eines Gegengiftes zu. Man glaubte nämlich, daß das Ausbleiben der Gärung in einer mineralischen Nährlösung ohne Bios zurückzuführen wäre auf die Wirkung des Ultramarins im Zucker oder auf das Kupfer im destillierten Wasser und der Laboratoriumsluft und die Wirkung dieser und ähnlicher Stoffe sollte eben durch das Bios aufgehoben werden.

Den Irrtum dieser Annahme wies Amand[1]) nach und Kossowicz[2]) füllte eine andere Lücke in den Untersuchungen von Wildiers aus. Dieser hatte nämlich seine ganzen Resultate nur aus der Messung der bei der Gärung entweichenden Kohlensäuremengen gezogen, hatte aber eine genaue Zählung der Hefezellen nicht vorgenommen, weil es für seine Versuche auch nicht direkt notwendig war. Bei einem genaueren Studium aber war dies nicht zu umgehen, und deshalb nahm Kossowicz diese Zählungen vor und stellte fest, daß in 100 ccm gezuckerter Nährsalzlösung mit Ammoniumsalzen als alleinige Stickstoffquelle sich 200 ausgesäte Zellen von Saccharomyces ellipsoideus I Hansen und einer Spiritushefe Rasse II der Berliner Versuchsstation in 50 Tagen auf 140 Millionen vermehrten, daß aber bei einer Aussaat von nur einer Zelle in 21 von 22 Versuchen jegliche Weiterentwickelung aufhörte. Das abweichende Resultat des 22. Versuches, bei welchem aber auch nur eine sehr geringe Vermehrung stattgefunden hatte, ist gewiß auf einen Impffehler zurückzuführen.

Was nun das Verhalten von Bios in geimpften Flüssigkeiten anbetrifft, so glaubte Amand[3]), daß der Biosgehalt schnell sänke, und zwar sowohl in der Flüssigkeit selbst als auch in den einzelnen Zellen, und daß er daher in letzteren schließlich auch durch Auslaugung nicht mehr festzustellen wäre. Genau die gegenteilige Meinung vertritt Henry[4]), der glaubt, daß bei der Gärung neues Bios entstehe, daß also neue Hefe neues Bios liefere.

Die Hefe ist keineswegs der einzige Organismus, der den merkwürdigen Stoff Bios enthält, sondern Kossowicz konnte ihn auch in anderen Pflanzen nachweisen, so z. B. in Penicillium und Mycoderma. Bios läßt sich in ihnen sehr einfach dadurch nachweisen, daß man in einer mineralischen Nährsalzlösung diese Pilze wachsen läßt, sie dann durch Sterilisation abtötet und nun die Flüssigkeit mit einer Hefezelle impft. Bald wird man das Eintreten der Hefevermehrung erkennen, was in von Anfang an pilzfreien, aber sonst gleichen Nährlösungen nicht der Fall ist. Dieser Befund, der von Amand bald bestätigt wurde, ist von großer Wichtigkeit, weil Preßhefe und Trub immer durch Mycoderma verunreinigt ist. Nun haben Kossowicz und Winogradsky[5]) an verschiedenen Mycoderma-Arten festgestellt, daß sie imstande sind, ihren gesamten Stickstoffbedarf lediglich durch Ammoniumsalze zu decken, und zwar selbst für den Fall, daß sie aus wenigen Individuen sich reichlich vermehrten. Durch ihre Entwickelung also kommt in die

---

1) La Cellule. T. XX. 1902.

2) Zeitschr. für das landwirtschaftl. Versuchswesen Oesterreichs. Bd. VI. 1903.

3) Cellule. T. XXI. 1904.

4) Ann. de brasserie et de distillerie. 1902; ref. in der Wochenschr. für Brauerei. Bd. XIX. 1902.

5) Arbeiten der St. Petersburger naturf. Ges. Bd. XIV. 1884; ref. im Bot. Centralblatt. Bd. XX. 1884.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nährlösung Bios hinein und sie bereiten daher den Nährboden für die Hefen vor.

Sind nun aber alle Bedingungen für die Entwickelung der Hefe bedingt, so zeigen sie für Stickstoff, der in Form von Ammoniumsalzen ihnen geboten wird, doch eine gewisse Vorliebe. Dies wurde zum ersten Male von Duclaux[1]) festgestellt und später von Laborde[2]) u. a. weiter untersucht. Laborde gelang sogar der Nachweis, daß bei einer Temperatur von 28 ° C der Ammoniakstickstoff in stärkerer Weise angegriffen wird als der in organischer Form gebotene. Bei 36 ° C finden wir gerade das umgekehrte Verhältnis. Halphen[3]) erbrachte die Bestätigung hierfür. Einige Hefen, z. B. Saccharomyces Zopfii, sind sogar mit schwefelsaurem Ammonium als alleinige Stickstoffquelle zufrieden. Mayer[4]) stellte fest, daß der Stickstoff in Form von Nitraten bis auf ganz wenige Ausnahmen kaum irgendwelchen Wert hat, er wurde jedoch von Dubrunfaut[5]) scheinbar widerlegt, doch später wurden durch Laurent[6]) alle seine Angaben bestätigt. Fragen wir uns nach der Ursache des ablehnenden Verhaltens der Hefen gegen Nitrate, so finden wir den Grund wohl in einer großen Reduktionstätigkeit der Zellen, durch welche sehr giftige Nitrite entstehen.

Wir haben also gesehen, daß der Stickstoffgehalt der Moste bei der Gärung zurückgeht, und infolgedessen war wohl kein Grund, einzusehen, warum man nicht Ammoniumsalze dem Moste zusetzen sollte, noch dazu, weil man gefunden hatte, daß eine Beschleunigung der Gärung hierdurch erzielt wurde.

Als erster schlug Andoynaud[7]) den Zusatz von Ammoniumsalzen zu Traubenmosten vor. In Deutschland war es denn besonders Nessler[8]), der einen derartigen Zusatz empfahl, und zwar namentlich bei der Vergärung von Obst- und Beerenweinen. Ausgehend von der später immer wieder bestätigten Tatsache, daß Heidelbeermost überhaupt nur dann einigermaßen schnell und kräftig durchzugären ist, wenn man stickstoffhaltige Substanzen zugibt, schließt er weiter, daß bei jeder Vergärung von Beerenmosten ein Zusatz derartiger Stoffe, und zwar am besten Ammoniumsalze, zu empfehlen wäre. Ebenso riet er unbedingt zu einem solchen Zusatz bei der Umgärung stichiger Weine. Ueber die Wahl des zuzusetzenden Ammoniumsalzes könnte man im Zweifel sein, doch Nessler fand speziell zwischen Chlorammonium und Ammoniumkarbonat keinen Unterschied, und auch die Befürchtung, daß Chlor bei der Verwendung von Chlorammonium in den Wein käme, trifft nicht zu, denn die Menge ist so gering (pro Liter 0,1—0,15 g), daß sie geschmacklich und gesundheitlich überhaupt nicht in Betracht kommt. Auch der Ammoniakgehalt der Weine wird bei der geringen Größe des Zusatzes (10—40 g pro Hektoliter) nicht erhöht, denn alles Ammonium verschwindet bei der Vergärung wieder bis auf ganz geringe Spuren. Nessler fand z. B.:

---

1) Ann. de l'école norm. sup. T. II. 1866.

2) Ann. Pasteur. T. XII. p. 517.

3) Untersuchungen über die alkalische Gärung, den Stoffbedarf und den Stoffwechsel der Hefepflanzen. Heidelberg 1869.

4) Compt. rend de l'ac. T. LXXIII. 1871.

5) Ann. Soc. belge de microscopie. T. XIV. 1890.

6) Ann. chim. analys. appl. T. VIII. 1903.

7) Weinlaube. Bd. XX. 1888.

8) Nessler, Ueber mangelhafte Gärung bei Trauben-, Obst- und Beerenweinen und über das Abhalten der Luft von denselben. (Wochenbl. des landw. Vereins im Großherzogtum Baden. 1889. No. 28.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

	ohne Zusatz	0,2 g NH_4Cl	0,2 g NH_4Cl 0,2 g Ca_3PO_4	0,4 g NH_4Cl
Spezifisches Gewicht	1,015	0,9942	0,9933	0,9935
Weingeist in 100 ccm	7,07	9,43	9,5	8,93
Freie Säure „ 100 „	0,64	0,59	0,6	0,58
Essigsäure „ 100 „	0,06	0,03	—	0,03
Glyzerin „ 100 „	0,68	0,71	0,64	0,62
Zucker „ 100 „	3,3	fast ganz verschwunden		
Ammonium „ 100 „	0	0,00030	0	0

Bei der Vergärung von Mosten schwarzer und weißer Trauben eines Rosinenauszuges u. dgl. konnte Nessler keinen Einfluß der Ammoniumsalze[1]) feststellen, und dies hat seinen Grund wohl darin, daß genügende Mengen von Stickstoff in den Trauben vorhanden sind.

Zu ähnlichen Resultaten wie Nessler kam Barth[2]), aber bei allen diesen älteren Versuchen müssen wir doch mit dem damaligen Stande der Kenntnisse von der Gärung rechnen. Wir wissen z. B. nicht, ob von den Autoren gärende Hefen in genügender Menge bei ihren Versuchen verwendet wurden, und wenn dies auch wirklich der Fall gewesen sein sollte, dann haben sie aber oftmals mit Flüssigkeiten gearbeitet, in welchen sich ein Nahrungsmangel bei den Hefen bemerkbar machen und wo infolgedessen ein Zusatz von Ammoniumsalzen unbedingt immer zweckmäßig erscheinen mußte. Wir müssen hierbei daran denken, daß früher allgemein angenommen wurde, daß Obstsäfte überhaupt nur dann vergärbar wären, wenn sie höchstens 5 Promille Säure enthielten. Wenn man daher, um diese „Höchstgrenze“ zu erreichen, einen Obstsaft mit 30 Promille Säure um das Sechsfache verdünnte, so ist leicht einzusehen, daß ein Nahrungsmangel für die Hefe eintreten mußte.

Unter Vermeidung dieser Fehler sind nun zahlreiche Versuche unternommen, um den genauen Einfluß der Ammoniumsalze auf verschiedene Moste zu untersuchen, so z. B. von Müller-Thurgau[3]) bei der Umgärung von Traubenweinen, Kulisch[4]) bei der Herstellung von Beerenweinen u. a. m.

Kulisch stellte durch seine Gärversuche fest, daß ein wesentlicher Vorteil durch einen Zusatz von einer Stickstoffzufuhr lediglich bei Heidelbeer- und Preißelbeermosten zu erkennen sei. Bei anderen Mosten verlief wohl die Gärung ganz im Anfang etwas schneller, aber ein nennenswerter Unterschied im Endresultat war nicht eingetreten, ja in einigen Fällen konnte er direkt einen schädigenden Einfluß des Chlorammoniums konstatieren, während dies bei Ammoniumtartrat wenigstens nicht der Fall war. Deutlich geht die Verzögerung der Gärung bei einem Chlorammoniumzusatze aus folgender Tabelle hervor:

Roter Johannisbeermost.

Nicht sterilisiert, spontan bei 15° vergoren. Verdünnung: 1 l Saft + 2 l Wasser, gestellt auf 140° Oechsle.

Gewicht der aus 500 ccm Most abgegebenen Kohlensäure

a	b	c	d	e
ohne	10 g	20 g	30 g	40 g

---

1) Neßler, Einfluß der Stickstoffverbindungen auf die Gärung. (Weinbau und Weinhandel. Bd. IX. 1891.)

2) Barth, Die Obstweinbereitung mit besonderer Berücksichtigung der Beerenobstweine. Stuttgart 1900.

3) 5. Jahresber. d. Versuchsst. Wädensweil 1894/95.

4) Bericht d. Kgl. Lehranstalt Geisenheim 1897/98.

			Salmiak auf 100 l		
Nach	4 Tagen	4,8	3,5	3,1	2,3	2,0
„	9 „	13,6	11,8	10,2	7,9	5,8
„	16 „	22,0	21,2	20,1	18,9	15,1
„	28 „	32,4	32,5	32,2	33,1	26,6
„	4 Monaten	56,2	55,2	59,6	59,6	57,2

Ergebnis: Verzögerung nur in den ersten Wochen.

Roter Johannisbeermost.

Pasteurisiert, mit Steinberger Reinhefe vergoren. Verdünnung: 1 l Saft + 2 l Wasser, auf 140° Oechsle gebracht. Gärtemperatur 15° C. Der Hefezusatz war hier sehr gering bemessen, daher beginnt die Gärung etwas ungleichmäßig.

Gewicht der aus 500 ccm Most abgegebenen Kohlensäure

	a	b	c	d	e
	ohne	10 g	20 g	30 g	40 g
			Salmiak auf 100 l		
Nach 14 Tagen	14,6	5,9	4,7	8,5	8,9
„ 30 „	33,9	21,1	17,7	11,5	11,2
„ 4 Monaten	47,5	33,0	28,1	12,4	12,9

Ergebnis: Dauernde, sehr erhebliche Beeinträchtigung der Gärung durch Salmiak.

Vergleichende Versuche, die **Kulisch** mit verschiedenen Ammoniumsalzen anstellte, ergaben, daß das Chlorammonium allen anderen Salzen überlegen ist, falls von allen gleiche Mengen verwendet werden, und dies kann auch nicht wunder nehmen, denn gerade das Ammoniumchlorid ist dasjenige Salz, welches prozentualiter den meisten Stickstoff enthält. Bezieht man aber die Wirkung der verschiedenen Salze auf gleiche Stickstoffmengen, dann tritt das weinsaure Ammoniak an die erste Stelle. Doch dieses Salz steht ebenso wie das saure phosphorsaure Ammonium im Preise so hoch, daß es dadurch für praktische Verhältnisse nicht in Betracht kommt. Für das saure phosphorsaure Ammonium gäbe es höchstens eine Ausnahme, denn diese Verbindung stellt eine sehr leicht assimilierbare Form der Stickstoffnahrung dar, und deshalb ist es sehr gut bei einer Vergärung unter schwierigen Verhältnissen zu gebrauchen, z. B. bei der Umgärung kranker Weine bei Gegenwart von Essigsäure.

Auch das schwefelsaure Ammonium ist von gewisser Bedeutung, schon weil es im Preise bedeutend niedriger steht als das weinsaure Ammonium. Bei seiner Anwendung dürfen nicht zu große Mengen genommen werden, denn die Versuche haben gezeigt, daß die mit 30 und 40 g Ammoniumsulfat behandelten Moste in der Gärung zurückblieben.

Wenn oben erwähnt wurde, daß Zusätze von Chlorammonium die Gärung verzögerten, so ist das nicht etwa als spezifisch für dieses Salz aufzufassen, sondern ähnlich verhalten sich alle Ammoniumsalze. Eine sichere Feststellung der Unterschiede zwischen ihnen ist bis jetzt noch nicht erfolgt und auch deswegen etwas schwierig, „weil[1]) einerseits die Abweichungen zwischen den bisher geprüften Salzen nur sehr gering sind und weil anderseits, selbst bei sorgfältigster Durchführung der Gärversuche, auch zwei genau in gleicher Weise angesetzte Gärflaschen sich bisweilen etwas verschieden verhalten können. Auf kleine Unterschiede bei den Gärversuchen ist daher kein Gewicht zu legen; jedenfalls muß, ehe aus solchen Schlüsse gezogen werden, durch gleichzeitiges Ansetzen mehrerer gleichartiger Kontrollversuche aufgeklärt werden, wie groß die Fehlerquellen der Versuche unter den gegebenen Verhältnissen sind.“

---

1) **Kulisch**, Ueber den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXIX. 1908. Heft 1.)

Was die Versuche **Windischs**[1]) betrifft, so muß dabei bemerkt werden, daß er mit einer starken Verdünnung des Mostes arbeitete, um günstige Bedingungen für die Wirkung der Ammoniumsalze auf die Gärung zu schaffen. Hierbei ging er aber soweit, daß er den Rahmen, innerhalb dessen eine Erforschung dieser Verhältnisse noch ein Interesse für die Obstweinbereitung hat, verließ. Durch die starke Verdünnung wurde naturgemäß auch der Säuregehalt der Weine derart verringert, daß z. B. künstlich Citronensäure zugegeben wurde, um gleichzeitig die Wirkung der Säuremenge auf die Hefevermehrung untersuchen zu können. Infolge dieser Versuchsanordnung kam **Windisch** zu anderen Ergebnissen als **Kulisch**. So fand er z. B.:

Versuche mit Kirschenmost.

Der ursprüngliche Kirschenmost hatte ein Mostgewicht von 66° Oechsle und 22,9 Prom. Säure. 1 l Kirschenmost wurde mit 2 l Wasser verdünnt, das Mostgewicht des verdünnten Mostes durch Zuckerzusatz auf 140° Oechsle erhöht. Vergärung bei Zimmertemperatur mit Steinberger Reinhefe.

Gewicht der aus den Mosten entwickelten Kohlensäure.

Zeitdauer der Gärung	Ohne Zusatz g	20 g Chlorammon auf 1 hl g	40 g Chlorammon auf 1 hl g	20 g saures phosphorsaures Ammoniak auf 1 hl g	40 g saures phosphorsaures Ammoniak auf 1 hl g
6 Tage	29,7	44,8	51,8	42,3	49,8
10 „	46,5	67,3	78,4	63,6	74,8
15 „	66,0	89,8	101,7	84,8	96,6
19 „	84,1	107,1	119,3	102,4	113,3
22 „	88,6	110,8	122,6	106,2	116,8
28 „	105,3	125,0	132,2	119,7	129,1
31 „	110,0	128,2	135,8	122,9	131,9
34 „	111,9	129,3	136,3	123,6	132,3
38 „	114,8	130,1	136,9	124,8	133,1
42 „	117,7	132,2	138,5	126,8	134,7
46 „	121,8	134,8	139,7	129,4	136,3
52 „	124,1	136,8	140,5	131,1	137,8
56 „	125,0	137,8	141,5	132,1	138,5
61 „	130,3	140,5	143,3	134,7	140,6
66 „	133,1	142,3	144,4	136,5	141,7
70 „	135,6	143,9	145,5	138,1	142,8
74 „	137,5	145,6	146,4	139,0	143,8
82 „	141,0	147,9	148,0	141,2	145,1
90 „	143,1	149,9	148,0	142,6	146,1

Ergebnis: Der Zusatz der Ammoniaksalze wirkt deutlich fördernd auf die Gärung ein, und zwar während der ganzen Dauer derselben. Die doppelte Menge der Ammoniaksalze wirkt sowohl bei dem salzsauren als auch bei dem phosphorsaurem Salz günstiger als die einfache Menge. Das Chlorammonium hat eine bessere Wirkung als das saure phosphorsaure Ammoniak; dabei ist zu berücksichtigen, daß das Chlorammonium wesentlich stickstoffreicher ist als das saure phosphorsaure Ammoniak.

Andere Versuche mit verdünntem Johannisbeermost (80° Oechsle, 1 l Most auf 4 l Wasser) ergaben, daß der Säurezusatz allein auf die

---

[1]) **Windisch**, Untersuchungen über die Wirkung des Zusatzes von Hefenährstoffen zu Beerenmosten. (Geisenheimer Jahresberichte, 1902. p. 114.)

Gärung gar keinen Einfluß hat, sondern daß sie ebenso schleppend verläuft, als ohne Zusatz von Zitronensäure. Anders aber gestalten sich die Verhältnisse, wenn noch ein Zusatz von saurem phosphorsauren Ammonium erfolgt. Die Gärung wird hierdurch ganz erheblich befördert, und zwar wirken auch bei dieser Versuchsanstellung 40 g besser als 20 g. Der Unterschied zu dem oben angeführten Versuche besteht hierbei darin, daß die Gärung bei einem Zusatze von Säure und Ammoniaksalz noch flotter verläuft als bei alleinigem Ammoniaksalzzusatz.

Diese Resultate ändern sich aber, wenn der verdünnte Johannisbeermost auf 140° Oechsle gebracht wird. Hier zeigt sich die Wirkung der zugesetzten Zitronensäure nicht besonders günstig, weil die Wirkung des Zusatzes von saurem phosphorsauren Ammoniak zum Teil herabgemindert wird.

Trotz dieser Beförderung der Gärung durch die Ammoniumsalze verläuft diese aber doch nicht so, daß dadurch der nachteilige Einfluß der übermäßigen Herabsetzung der Hefenährstoffe ersetzt werden kann. Wenn man ferner bedenkt, daß Weine mit so stark vermindertem Säuregehalt viel leichter zu Bakterienkrankheiten neigen und daß außerdem der Fruchtgeschmack stark durch die Verdünnung beeinträchtigt wird, so liegt es auf der Hand, daß in der Praxis ein solcher starker Wasserzusatz auszuschließen ist, und wir können daher wohl mit Recht behaupten, daß für die Vergärung derartiger Beerenmoste noch nicht der strenge Beweis erbracht ist, daß ein Zusatz von Ammoniumsalzen einen nennenswerten Nutzen bringt, wenn diese Moste nicht in technisch unzweckmäßiger Weise verdünnt wurden.

Der Zusatz von Ammoniaksalzen bei der Vergärung von Traubenweinen.

Noch weniger als bei der Beerenweinbereitung ist für die Traubenweinbereitung der Beweis für die Zweckmäßigkeit eines Ammoniaksalzzusatzes erbracht, und daher ist auch durch das Gesetz eine Verwendung von Gärsalzen verboten. Trotzdem ist die Anwendung speziell bei der Traubenweinvergärung doch wohl häufiger, als allgemein bekannt ist. Zur Verwendung gelangen meistens 20—40 g pro 100 l, und zwar wird dem phosphorsauren und schwefelsauren Ammonium vor dem chlorsauren der Vorzug gegeben. Der Grund liegt darin, daß der durch den Gebrauch des letzteren Salzes entstehende hohe Chlorgehalt den Wein verdächtig machen würde.

Im großen und ganzen liegen über den Gebrauch von Ammoniaksalzen bei der Traubenweingärung nur ganz allgemeine Angaben vor. Genaue Resultate haben wir nur von Nessler[1]) und Müller-Thurgau[2]). Nessler gelang der Nachweis, daß der Most schwarzer und weißer Trauben mit 10 Prom. Zucker einen Einfluß der Ammoniumsalze auf den Verlauf der Gärung nicht erkennen läßt, und zwar deshalb nicht, weil die deutschen Trauben ganz allgemein hinreichend Nahrung für die Hefe bieten. Anders dagegen liegen die Verhältnisse bei südländischen Trauben. Ihr Saft kommt manchmal sehr schwer zur Gärung, und dies hat seinen Grund einmal in der Bildung von Essigsäure, die infolge des mangelhaften Luftabschlusses bei den dort herrschenden hohen Wärmegraden

---

1) Weinbau und Weinhandel. 1891. p. 3.

2) 5. Ber. Wädensweil. 1897/98.

entstanden ist, anderseits aber wird es auch wohl auf einen Mangel an stickstoffhaltigen Nährstoffen zurückzuführen sein. Diesem Uebelstande kann man durch Zusatz von Traubenhülsen oder zerstampften Trauben abhelfen; sehr gut bewährt sich auch ein Zusatz von Ammoniaksalzen. Für letzteren Fall möchte ich einige Beispiele anführen[1]):

Ein Wein von eingeführten, zerstampften italienischen Trauben hatte am 28. Oktober ein spezifisches Gewicht von 1,038 bei einem Säuregehalt von 0,72 Proz. Er wurde zur Hälfte mit 0,3 g Salmiak auf das Liter versetzt. Das spezifische Gewicht betrug:

	12. November	17. November
ohne Ammoniak	1,012	1,006
mit „	1,000	1,000

In einem anderen Falle wurden 350 Teile aus Neapel eingeführten, eingedampften Mostes am 27. Oktober mit Wasser auf 1000 Teile verdünnt. Einem Liter wurden 0.3 g Salmiak zugesetzt. Das spezifische Gewicht betrug:

	27. Oktober	12. November	17. November
ohne Ammoniak	1,0955	1,0045	1,0010
mit „	1,0965	0,9972	0,9969

Bei allen diesen südländischen Weinen konnte also durch einen Zusatz von Ammoniak eine Beschleunigung der Gärung bewirkt werden; der Gehalt der Weine an aufnehmbarem Stickstoff war also offenbar für eine genügend rasche Entwickelung der Hefe zu gering.

Zu ähnlichen Resultaten kam Müller-Thurgau bei seinen Untersuchungen über Nach- und Umgärung.

Auch Kulisch hat Versuche in dieser Richtung unternommen und hat gefunden, daß in keinem einzigen Falle eine nennenswerte Begünstigung des Gärverlaufs durch einen solchen Ammoniaksalzzusatz zu bemerken war. Diese Resultate können natürlich nur dann zutreffen, wenn der Wein nicht zu sehr gestreckt ist. Ist dies aber soweit geschehen, daß der Stickstoffgehalt unter die zur Hefeernährung erforderliche Mindestmenge herabgesetzt ist, dann kann natürlich ein Zusatz von Ammoniumsalzen wohl einen besseren Verlauf der Gärung herbeiführen. Als Beweis hierfür möchte ich einige Resultate der Kulischschen Untersuchungen anführen.

Vergärung eines mit Zuckerwasser aufs Doppelte gestreckten Naturtraubenmostes mit wachsenden Mengen phosphorsauren Ammoniums.

Pasteurisierter Naturmost von Buflach aus gemischtem Satz, verdünnt mit dem gleichen Maß Wasser und auf 1 l der Mischung mit 120 g Rohrzucker versetzt. Je 1 l dieser Mischung ist in Gärflaschen mit den angegebenen Mengen des phosphorsauren Ammoniums versetzt, sterilisiert und mit 1 ccm Hefe (Reinhefe Reichenweier XA) versetzt. Gärtemperatur 20° C. Die Tabelle enthält die für 1 l gärender Flüssigkeit abgegebenen Kohlensäuremengen.

(Siehe Tabellen p. 21.)

Umgärung eines stark verdünnten 1906er Colmarer Rieslings unter Zugabe von wachsenden Salmiakmengen.

1906er Colmarer Riesling wurde mit Wasser aufs Doppelte verdünnt. Auf 1 l des verdünnten Weines wurden 90 g Rohrzucker zu-

---

[1]) Nessler, Die Bereitung des Weines, p. 105.

Zahl der Tage	Ohne phosphorsaures Ammonium	Mit 20 g phosphorsauren Ammoniums pro hl	Mit 40 g phosphorsauren Ammoniums pro hl	Mit 60 g phosphorsauren Ammoniums pro hl
1	0	0	0	0
2	4,0	3,0	3,4	3,2
3	26,0	24,6	25,6	26.0
4	42.4	40,8	41,0	41,0
5	56,0	54,8	54,6	54,0
6	65,6	65,2	64,6	64,2
7	72,0	71,8	71,4	71,6
8	76,6	77,6	76,2	76,2
9	80,0	80,4	79,2	79,4
10	81,8	82,0	80,8	81.2
13	84,0	83,2	82,2	82,6
15	84,6	83,6	82,6	83,2
18	85,2	84,0	83,0	83,6
21	85,6	84,2	83,4	83,8

In 100 ccm der Versuchsweine waren nach Beendigung der Gärung enthalten Gramm:

	Ohne phosphorsaures Ammonium	Mit 20 g phosphorsauren Ammoniums pro hl	Mit 40 g phosphorsauren Ammoniums pro hl	Mit 60 g phosphorsauren Ammoniums pro hl
Alkohol	8,37	8,47	8,49	8,15
Gesamtsäure	0,73	0,735	0,74	0,74
Extrakt	1,8342 1,8224	1,8768 1,8616	1,9166 1,9154	1,9338 1,8940
Asche	0,1698 0,1670	0,1768 0,1738	0,1816 0,1800	0,1832 0,1828
Phosphorsäure	0,0119	0,0261	0,0365	0,0476
Gesamtstickstoff	0,0317	0,0350	0,0389	0,0415
Ammoniumstickstoff	—	0,0009	0,0009	0,0037
Ferner wurden ermittelt:				
Spez. Gewicht	0,9933	0,9935	0,9937	0,9937
Gesamtalkalität (aus Normalnatronlauge)	2,30 2,17	2,03 1,93	1,97 1,90	1,77 1,67

gesetzt. Je 1 l der so erhaltenen nicht pasteurisierten Flüssigkeit wurde mit den unten angegebenen Salmiakmengen und mit ½ Proz. einer stark gärenden Kultur der Reinhefe St. Pilt XIII b versetzt. Gärtemperatur 20°.

Der ursprüngliche Wein enthielt in 100 ccm: Alkohol 7,57 g, Extrakt 2,738 g, Gesamtsäure 0,65 g, Stickstoff 0,0875 g.

Zahl der Tage	Ohne Salmiak	15 g Salmiak pro hl	30 g Salmiak pro hl	45 g Salmiak pro hl
3	0,1	0	0	0,1
4	0,2	0,1	0	0,1
5	5,0	0,2	0	0,1
6	13,4	5,9	0,1	0,1
7	22,0	17,7	1,1	0,3
8	26,5	24,8	8,8	5,4
9	30,5	29,5	18,2	13,6
10	33,4	32,8	24,8	20,5
11	35,5	35,0	29,2	25,3
12	37,2	36,7	32,5	28,9
13	37,8	37,3	34,0	30,6

Zahl der Tage	Ohne Salmiak	15 g Salmiak pro hl	30 g Salmiak pro hl	45 g Salmiak pro hl
15	40,0	39,0	36,5	33,3
17	40,0	39,0	36,5	33,3
18	40,0	39,0	36,5	33,3
21	40,0	39,0	36,5	33,3
24	40,0	39,0	36,5	33,3
27	40,0	39,0	36,5	33,3

Bei allen diesen Versuchen zeigt sich kaum eine Spur der Steigerung der Gärung durch den Zusatz von Ammoniumsalzen, ja zum Teil haben sie sogar etwas nachteilig gewirkt.

An dieser Stelle müssen wir nochmals auf die bereits erwähnten Untersuchungen von **Müller-Thurgau** zurückkommen. Dieser Autor hatte zahlreiche Weine zu untersuchen, die in der Umgärung stecken geblieben waren und die deshalb noch große Mengen unvergorenen Zuckers enthielten. Der Grund für das Steckenbleiben liegt darin, daß zum Teil zuviel Wasser und Zucker zugesetzt war, und wenn die Verbesserung der Weine erst nach vorgeschrittener oder gar abgeschlossener Gärung vorgenommen werden sollte, dann machte sich auch noch ein Uebermaß an Säure recht bemerkbar.

In solchen Weinen wirkt dann der große Zuckerreichtum und der Mangel an Hefenährstoffen, und zwar speziell an Stickstoff, sehr hinderlich. Abgesehen von anderen Methoden, um die Gärung wieder in Gang zu bringen, verfährt man in den meisten Fällen nach der Erfahrung von **Müller-Thurgau** am besten, wenn man Stickstoffnahrung in Form von Ammoniumkarbonat, Ammoniumphosphat oder Salmiak zuführt, und zwar genügen von letzterem Salze etwa 20 g pro Hektoliter.

Diesen Resultaten **Müller-Thurgaus** stehen die Untersuchungen **Kulischs** in gewisser Weise gegenüber, wie schon aus den oben aufgeführten Angaben hervorgeht. Zur genaueren Diskussion wollen wir aber noch ein Beispiel der Untersuchungen von **Kulisch** näher betrachten.

1906er Colmarer Riesling wurde zur Entfernung des Alkohols auf $^1/_2$ seines Volumens eingedampft, mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Maß wieder aufgefüllt und dann, wie in der Tabelle angegeben, auf das $1^1/_2$—15-fache mit Wasser verdünnt. Auf je 1 l des entgeisteten, verdünnten Weines wurden 200 g Zucker und $^1/_2$ Proz. einer 12-tägigen Kultur der Reinhefe St. Pilt XIIIb zugegeben. Die Flüssigkeiten wurden vor dem Hefezusatz nicht pasteurisiert. Je eine Gärflasche blieb ohne Salmiakzusatz, eine zweite enthielt 0,3 g Salmiak. Gärtemperatur 20°.

(Siehe Tabelle p. 23.)

Die fetter gedruckten Zahlen geben diejenigen Wägungen an, bei denen die Flüssigkeiten mit Ammoniumsalzzusatz den entsprechenden ohne Ammoniumsalz voraus sind. Bei [1]) liegt wohl ein Wägefehler vor.

Wie aus der Tabelle zu sehen ist, nimmt die Gärung bei den Flüssigkeiten ohne Ammoniumsalzzusatz mit steigender Verdünnung ganz allmählich ab, bis bei der 10- und 15-fachen Verdünnung diese Abnahme rascher erfolgt.

Ist aber ein Ammoniumsalzzusatz erfolgt, so wird bei schwacher Verdünnung die Gärung etwas beeinträchtigt. Bei stärkerer Verdünnung tritt eine günstige Wirkung des Salmiaks zutage, doch dieser Vorsprung verschwindet bald wieder und die Gärung nimmt schnell ab, und zwar merkwürdigerweise um so rascher, je stärker die Verdünnung wird. Da

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zahl der Tage	Ohne Salmiak						Zahl der Tage	Mit 30 g Salmiak auf 100 l der Mischung					
	50 ccm H_2O	100 ccm H_2O	200 ccm H_2O	400 ccm H_2O	900 ccm H_2O	1400 ccm H_2O		50 ccm H_2O	100 ccm H_2O	200 ccm H_2O	400 ccm H_2O	900 ccm H_2O	1400 ccm H_2O
2	4,8	4,0	3,0	1,5	0,7	0,3	2	0	0	**3,5**	**2,5**	0,6	0,3
3	24,9	20,3	14,3	8,5	4,4	2,6	3	18,8	16,2	**15,7**	**10,9**	**4,6**	2,3
4	42,8	34,8	24,4	15,2	8,1	5,4	4	37,9	31,6	**26,5**	18,2	**10,0**	**5,7**
5	58,4	47,8	34,2	21,8	11,7	8,2	5	53,8	44,0	**35,6**	**23,9**	**13,7**	**8,6**
6	70,0	58,0	42,8	27,4	15,1	10,7	6	65,5	54,2	**43,1**	**29,0**	**16,9**	**11,1**
7	78,6	66,4	50,2	32,6	18,1	13,0	7	74,2	62,5	49,3	**33,3**	**19,8**	**13,4**
8	83,9	72,8	56,2	37,1	20,5	14,9	8	80,1	68,8	54,2	37,0	**22,4**	**15,5**
9	87,7	77,8	60,7	41,0	22,8	16,6	9	84,2	73,9	58,3	40,1	**24,7**	**17,1**
11	92,5	85,3	68,9	47,3	26.8	19,8	11	88,8	81,4	65,0	45,4	26,4[1]	**19,9**
13	95,0	90,4	76,3	53,6	30,7	23,1	13	91,4	86,8	71,6	50,5	**31,9**	22,4
16	96,7	94,9	85,0	61,5	36,3	27,7	16	92,8	91,1	79,0	56,9	**36,9**	26,0
18	97,5	96,8	89,7	67,6	40,7	31,3	18	93,4	92,9	84,8	61,5	40,3	28,0
20	98,1	98,2	94,1	76,3	46,8	36,7	20	93,9	54,1	90,7	67,3	43,1	29,3
23	98,3	98,5	95,5	81,2	50,9	40,0	23	93,9	94,4	93,2	70,4	44,0	29,7
26	98.4	98,8	96,3	86,1	54,9	43,1	26	94,0	94,6	94,9	73,1	45,0	30,0
30	98,5	98,8	96,8	90,3	59,0	47,1	30	94,1	94,7	96,2	75,6	46,2	30,1
33	98,6	99,0	96,9	92,8	61,7	48,1	33	94,2	94,8	96,7	77,2	47,1	30,2
37	98,6	99,0	97,0	94,4	64,4	49,9	37	94,2	94,8	96,8	78,6	47,9	30,3
40	98,6	99,0	97,0	95,1	65,9	51,1	40	94,2	94,9	96,8	80,6	48,5	30,4

durch die Verdünnung die Hefenährstoffe immer mehr vermindert sind, scheint der Salmiakzusatz zu einer harmonischen Ernährung der Hefen nicht ausgereicht zu haben. Diese Erscheinung in Verbindung mit der Tatsache, daß durch eine immer stärker werdende Verdünnung auch der Alkoholgehalt der umzugärenden Weine sinkt, bewirkt, daß die Umgärung in den Traubenweinen im allgemeinen sogar um so leichter einsetzt und um so vollständiger verläuft, je stärker die Weine mit Zuckerwasser verdünnt werden.

Wirkung der Ammoniumsalze bei der Umgärung von Weinen, die ungünstige Gärungsbedingungen bieten.

Es könnte sich bei diesen Versuchen naturgemäß nur um Umgärung von Weinen handeln, die von Natur schon sehr stickstoffarm sind und in denen die Hefenährstoffe durch starkes Verdünnen noch weiter herabgedrückt waren. Das Gesamtergebnis dieser Versuche faßt Kulisch dahin zusammen, „daß[1]) auch unter diesen, für die Wirkung der Ammoniumsalze außerordentlich günstigen Verhältnissen im allgemeinen ihre Wirkung nur sehr gering war und daß selbst in den Fällen, wo die Ammoniumsalze noch verhältnismäßig gut gewirkt haben, der Erfolg, absolut genommen, für die wirtschaftlichen Verhältnisse der Weinbereitung kaum irgendwie ins Gewicht fallen kann. Wo sich eine günstige Wirkung der Ammoniumsalze zeigte, war diese am stärksten bei Beginn der Gärung vorhanden. Später verwischte sich mehrfach der Erfolg mit dem Fortschritte der Gärung, so daß schließlich auch hier in einem Falle die anfangs am besten gärenden Flüssigkeiten mit Ammoniumsalzzusatz zum Schluß hinter denen ohne Zusatz zurückstanden. Ein wesentlich früherer Abschluß wurde in keinem Falle erreicht.“ Die in den ersten Tagen durch die Ammoniumsalze um so kräftiger einsetzende Gärung, je mehr

---

1) **Kulisch**, l. c. p. 196.

Salz hinzugefügt wird, kehrt sich also bald so um, daß die Gärung am Schluß um so schlechter verläuft, je größer der Ammoniumzusatz war. Außerdem enthalten die Weine um so mehr unvergorenen Zucker, je größere Mengen Ammoniumsalze verwendet wurden. Bemerkenswert ist noch, daß die Inversion des Rohrzuckers nach so langer Gärdauer noch unvollständig ist, und zwar umsomehr, je mehr Ammoniumsalz zugesetzt wurde. Kulisch ging in einzelnen Fällen mit der Verdünnung der Weine ganz bedeutend über die gesetzlichen Grenzen hinaus, und man muß erstaunt sein, daß selbst unter diesen Umständen der Einfluß der Ammoniumsalze nur ein so außerordentlich geringer ist.

Abhängigkeit der Wirkung verschiedener Ammoniumsalze von der Höhe des ursprünglichen Alkoholgehaltes bei der Umgärung von Traubenweinen.

Es schien uns bei dem oben angegebenen Stande der Frage von einigem Interesse zu sein, die Abhängigkeit der Wirkung der Ammoniumsalze von der Höhe des Alkoholgehaltes der umzugärenden Weine genauer zu untersuchen.

Bei der ersten Versuchsanordnung handelte es sich um einen Wein „Geisenheimer 1906“ vom spez. Gewichte 1,0. Der Gehalt an Gesamtsäure betrug in 100 ccm 0,627 g und an flüchtiger Säure in 100 ccm 0,056 g (als Essigsäure berechnet). Der Alkoholgehalt betrug 5,70 g in 100 ccm oder 7,18 Volumproz. Von diesem Weine wurden die Gärflaschen mit je 400 ccm gefüllt und steigende Mengen Chlorammonium zugesetzt. Außerdem wurden der Serie I 6 Prom. Zucker und der Serie II 2 Prom. Zucker zugesetzt. Nun wurden die Flaschen serienweise an drei aufeinanderfolgenden Tagen im strömenden Dampf $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde sterilisiert und von jeder Serie an einer Probeflasche die Alkoholbestimmung vorgenommen. Der Alkoholgehalt war in Serie I herabgesunken auf 1,22 g in 100 ccm oder 1,45 Volumproz., und in Serie II auf 2,27 g in 100 ccm oder 2,96 Volumproz. Es wurde dann zu den Flaschen der Serie I auf je 100 ccm Inhalt 4,78 g absoluter Alkohol gegeben, so daß diese Serie hierdurch auf 6 g Alkohol gebracht war. Die Flaschen der Serie II wurden durch Zusatz von 5,73 g Alkohol auf je 100 ccm Inhalt auf 8 g Alkohol gebracht. Durch diesen nachträglichen Alkoholzusatz war keine Infektion eingetreten, denn die so behandelten Weine zeigten nach längerem Stehen keine Veränderung. Zur Impfung dieser Flaschen wurden in genau gleichen Reagenzgläsern je 4 ccm steriler Most mit 1 Oese der Heferasse Steinberg 1893 geimpft, und als diese Kulturen 3 Tage alt waren, wurde der Inhalt je eines Glases zu jeder Flasche gegeben, die dann sofort mit einem Wortmann-Gärkolben verschlossen wurden. Zur Bestimmung der Kohlensäureabgabe wurden sämtliche Flaschen nach je 24 Stunden gewogen. Die Gärtemperatur betrug 17° C. Das Resultat war folgendes:

(Siehe Tabelle p. 25.)

Wie aus der Tabelle hervorgeht, zeigen bei der Serie I alle Flaschen bis zum 4. Tage ein ziemlich gleichmäßiges Ansteigen der Gärung. Dann aber setzt sie stärker ein, um am 7. Tage den höchsten Punkt erreicht zu haben, und zwar ist dies von den Versuchsflaschen erreicht, denen 0,00 g Chlorammonium pro 100 ccm zugesetzt war. Dann fällt die Gärung wieder ziemlich gleichmäßig, um am 12. Tage etwa ihr Ende zu erreichen.

Serie	Chlorammon.-zusatz in Gramm pro 100 ccm	1. Tag	Differenz	2. Tag	Differenz	3. Tag	Differenz	4. Tag	Differenz	5. Tag	Differenz	6. Tag	Differenz	7. Tag	Differenz	8. Tag	Differenz	9. Tag	Differenz	10. Tag	Differenz	11. Tag	Differenz	12. Tag	Differenz	13. Tag	Differenz	14. Tag
I.	0,002	739,55	0,1	739,45	0,07	739,38	0,08	739,30	0,25	739,05	1.0	738,05	1,35	736,70	1,6	735,1	0,7	734,4	1,3	733,1	1,1	732,0	0,9	731,1	0,3	730,8	0,5	730,3
	0,001	735,05	0 08	734,97	0,02	734,95	0,13	734,82	0,27	734,55	0.9	733,65	1,35	732,30	1,1	731,2	1,2	730,0	1,6	728,4	1,0	727,4	0,9	726,5	0,6	725,9	0,4	725,5
	0,001	720,2	0,05	720,15	0.1	720,05	0,1	719,95	0,25	719,70	1,0	718,70	1,4	717,30	1,5	715,8	0,9	714,9	1,4	713,5	1,1	712,4	0,9	711,5	0,4	711,1	0,4	710,7
	0,000	761,0	0,05	760,95	0.05	760,90	0,15	760,75	0,35	760,40	0,9	759,50	0,9	758,60	1,1	757,5	0,6	756,9	1.1	755,8	1,0	754,8	1,0	753,8	0,7	753,1	0,6	752 5
	0,000	728,3	0 05	728,25	0,02	728,25	0,13	728,10	0,30	727,80	0,55	727,25	0,85	728,40	0,5	725,9	1,1	724,8	1,0	723,8	1,0	722,8	1,1	721,7	0,7	721,0	0,7	720,3
	0,003	740,45	0,02	740,43	0,05	740.38	0,13	740,25	0.35	739,90	0,7	739,20	1,0	738,20	1,2	737,0	0,7	736,3	1,1	735,2	1,1	734,1	1,1	733,0	0,6	732,4	0,6	731,8
	0,003	704,05	0,15	703,9	0,1	703,80	0,1	703,70	0,2	703,50	0,65	702,85	0,95	701,90	0,9	701,0	0,5	700,5	1,0	699,5	1,0	698,5	1,1	697,6	0.7	696,9	0,7	696,2
	0,004	759,65	0,05	759,60	0,0	759,60	0,25	759,35	0 3	759,05	1,05	758,00	1,2	756,80	1,4	755,4	0,7	754,7	1,4	753,3	0,9	752,4	1,1	751,3	0,5	750,8	0,5	750,3
	0,004	732,6	0,18	732,47	0,07	732,40	0,15	732,25	0,4	731,85	0,75	731,10	1,0	730,10	1,0	729,1	0,6	728,5	1,1	727,4	0,8	726,6	1,1	725,5	0,8	724,7	0,5	724,2
II.	0,000	715,0	0,1	714,9	0.05	714,85	0,3	714,55	0,4	714,15	0,95	713,20	0.55	712,65	0,35	712,3	0,2	712,1	0,2	711,9								
	0,000	716,75	0,1	716,65	0,05	716,60	0,2	716,40	0,28	716,12	0,62	715,50	0,6	714,9	0,5	714,4	0,3	714,1	0,3	713,8								
	0,001	703,75	0,05	702,70	0,05	703,65	0,3	703,35	0,65	702,70	1,10	701,60	0,52	701,08	0,18	700,9	0,2	700,7	0,3	700,4								
	0,001	700,6	0,17	700,46	0,06	700,40	0,3	700,10	0,7	699,4	1,1	698,30	0,4	697,9	0,2	697,7	0,2	697,5	0,2	697,3								
	0,002	712,5	0.07	712,46	0,06	712,40	0,11	712,22	0,32	711,9	1,15	710,95	0,6	710,35	0,25	710,1	0 2	709,9	0,2	709,7								
	0,002	737,4	0.05	737,35	0,07	737,28	0,13	737,15	0,1	737,05	0,45	736,60	0,5	736,1	0,5	735,6	0,3	735,3	0,3	735,0								
	0,003	691,55	0.05	691,50	0,05	691,45	0,15	691,30	0,35	690,95	0,8	690,15	0,85	689,30	0,4	688,9	0,2	688,7	0,2	688,5								
	0,003	758,5	0,1	758,40	0,05	758,35	0,15	758,20	0,15	758,05	0,5	757,55	0,75	756,80	0,4	756.4	0,3	756,1	0,3	755.8								
	0,004	653,75	0.15	653,60	0,05	653,55	0,25	653,30	0,45	652,85	0,8	652,05	0,45	651,60	0,3	651,3	0 2	651,1	0,2	651,9								
	0,004	741,95	0,05	741,90	0,08	741,82	0,07	741,75	0,2	741,55	0,55	741,00	0,6	740,40	0,4	740,0	0,25	739,75	0,25	739,5								

Die Versuchsflaschen, denen Chlorammonium zugesetzt war, erreichen die höchste Kohlensäureabgabe erst am 9. Tage, aber diese steht auch dann noch um 0,34 g hinter der Kohlensäuremenge zurück, welche die Flüssigkeiten mit 0,00 g Chlorammoniumzusatz am 7. Tage abgaben.

Andere Verhältnisse finden wir bei der Serie II, die also 8 Proz. Alkohol aber nur 2 Proz. Zucker enthielt. Hier finden wir die stärkste Vergärung am 5. Tage bei einem Ammoniumzusatze von 0,001 g pro

100 ccm. Die Kohlensäuremengen, die von den Flaschen mit einem Zusatze von 0,00 resp. 0,004 g abgegeben wurden, sind um 0,32 resp. 0,44 g geringer als bei dem Zusatze von 0,001 g Chlorammonium.

Bevor wir die Resultate dieses Versuches diskutieren, wollen wir in Kürze die Resultate eines Versuches feststellen, bei welchem der Alkoholgehalt bei gleichbleibender Zuckermenge stieg. Zu diesem Gärversuch diente ein Wein Geisenheimer 1904 Solonis Leideck als Untersuchungsobjekt. Dieser Wein hatte 7,77 g in 100 ccm oder 9,79 Volumprozent Alkohol und einen Stickstoffgehalt von 0,0615 g. Zu diesen Versuchen wurden Gärflaschen mit je 200 ccm des Weines verwendet, denen wieder steigende Mengen von Chlorammonium zugesetzt waren. Pro 100 ccm Flüssigkeit wurden 6 g Zucker zugegeben. Nachdem der Wein nun serienweise im strömenden Dampf an 3 aufeinander folgenden Tagen sterilisiert und von jeder Serie aus einer Probeflasche eine Alkoholbestimmung vorgenommen war, wurde durch Zusatz einer bestimmten Menge absoluten Alkohols der Alkoholgehalt der Serie I auf 5 g, der Serie II auf 7 g, der Serie III auf 9 g und endlich der Serie IV auf 11 g gebracht.

Gleichzeitig waren in gleichen Reagensgläsern je 3 ccm Most mit einer Oese der Reinhefe Steinberg 1893 geimpft und nachdem diese Kulturen 4 Tage gestanden hatten, wurde zu jeder Flasche der Inhalt eines Reagensglases gegeben und die Flasche sofort mit einem in Alkohol sterilisierten Wortmannschen Gärspund versehen. Die Gärtemperatur betrug 16,5° C. Nach je 24 Stunden wurde bei sämtlichen Flaschen durch Wägung die Größe der Kohlensäureabgabe festgestellt. Diese betrug:

(Siehe Tabelle p. 27.)

Betrachten wir den Verlauf der Gärung genauer, so sehen wir, daß bei einem Alkoholgehalte von 5 g die größte Kohlensäuremenge am 3. Tage entwickelt wurde, und zwar von der Flasche, welcher 0,005 g Chlorammonium pro 100 ccm zugesetzt war. Die schwächste Vergärung war mit einem Ammoniumzusatze von 0,003 g erzielt, ja sie war sogar noch schwächer, als bei der Flasche ohne jedes Ammoniumchlorid. Die Kohlensäuremenge blieb der von der Flasche 6 gegenüber um 0,7 g in ihrer Höchstentwickelung zurück.

Bei der Serie II, die also 7 g Alkohol ursprünglich enthielt, finden wir die stärkste Kohlensäureabgabe ebenfalls am 3. Tage, aber hier bei einem Ammoniumsalzzusatz von 0,004 g pro 100 ccm (Flasche No. 11). Ohne Salzzusatz bleibt die höchste angegebene Kohlensäuremenge um 0,4 g gegen die der Flasche 11 zurück und um 0,2 g gegen die der Flasche 7, die gar kein Chlorammonium enthält. Wir sehen hier also deutlich die retardierende Wirkung des Chlorammoniums, wenn es in einer Menge von 0,03 g pro 100 ccm Flüssigkeit zugesetzt wird.

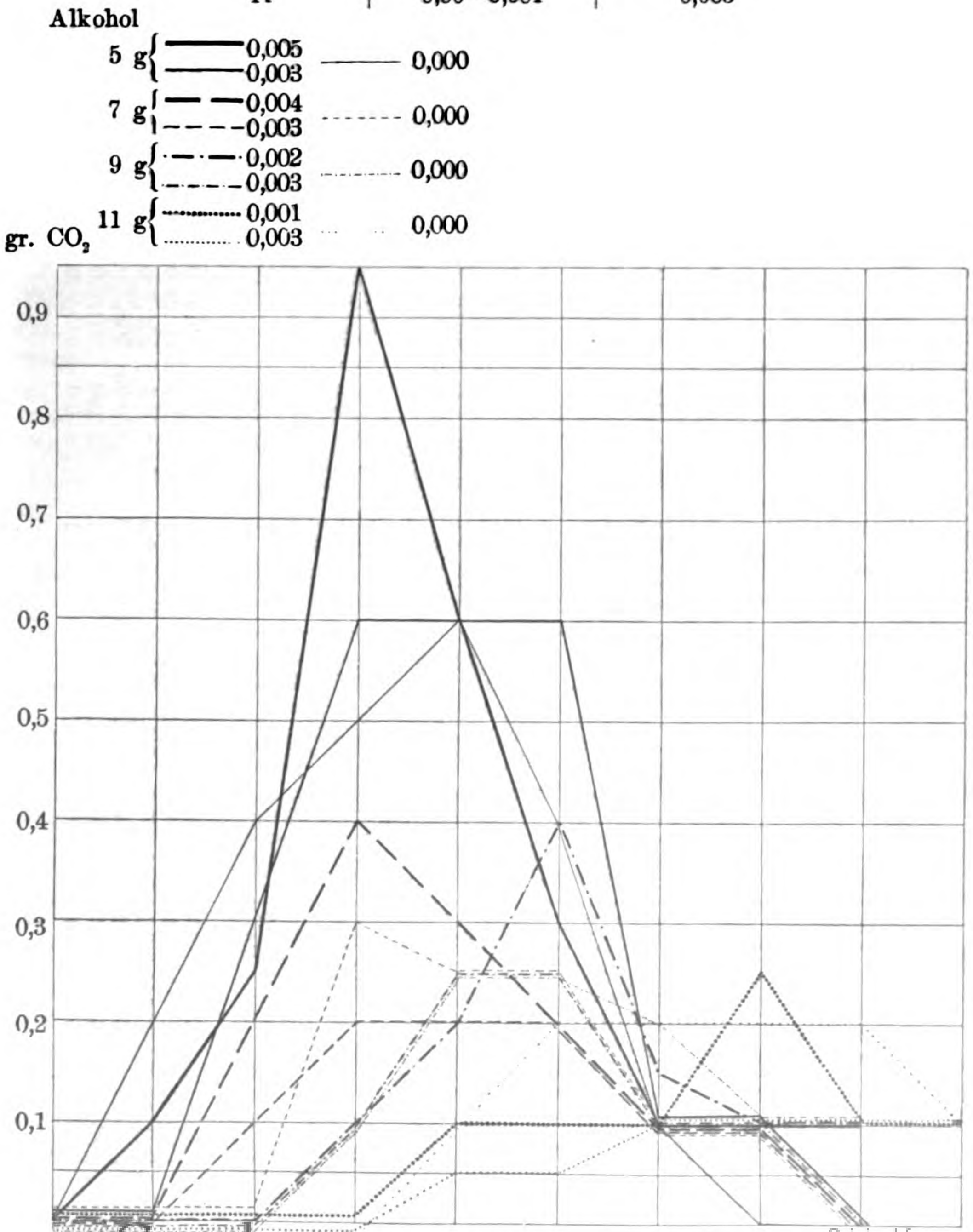
Aehnliche Verhältnisse finden wir bei einem ursprünglichen Alkoholgehalt von 9 g in der Serie III, nur daß hier die größte Kohlensäuremenge nicht von 0,004 g Chlorammonium pro 100 ccm entwickelt wurde, sondern von 0,002 g (Flasche No. 15). Demgegenüber zeigt ein Zusatz von 0,003 g wieder eine bedeutende Hemmung der Gärung, und zwar bleibt die entwickelte Kohlensäuremenge um 0,3 g (Flasche No. 16) gegen die der Flasche 15 zurück. In diesem Falle ist zwischen dem Gärverlauf ohne Chlorammonium und mit einem Zusatze von 0,003 g kaum ein Unterschied zu bemerken. Nur scheint die Gärung ohne Chlorammonium intensiver durchgeführt zu sein, weil die Kohlensäureabgabe hier langsamer aufhört als bei einem Zusatze von 0,003 g pro 100 ccm.

Serie	No. d. Flasche	% Alk.-Geh.	Chlorammoniumgehalt	1. Tag	Differenz	2. Tag	Differenz	3. Tag	Differenz	4. Tag	Differenz	5. Tag	Differenz	6. Tag	Differenz	7. Tag	Differenz	8. Tag	Differenz	9. Tag	Differenz	10. Tag	Differenz	11. Tag	Differenz
I	1	5	0,000	578,0	0,2	577,8	0,4	577,4	0,3	576,7	0,6	576,1	0,4	575,7	0,1	575,6	0,0	575,6	0,0	575,6	0,0	575,6			
	2	5	0,001	580,6	0,1	580,5	0,4	580,1	0,1	579,3	0,6	578,7	0,4	578,3	0,1	578,2	0,0	578,2	0,0	578,2	0,0	578,2			
	3	5	0,002	579,7	0,0	579,7	0,25	579,45	0,25	578,8	0,7	578,1	0,5	577,6	0,1	577,5	0,15	577,35	0,05	577,3	0,0	577,3			
	4	5	0,003	548,4	0,0	548,4	0,3	548,1	0,6	547,5	0,6	546,9	0,6	546,3	0,1	546,2	0,1	546,1	0,0	546,1	0,0	546,1			
	5	5	0,004	534,6	0,1	534,5	0,25	534,25	0,95	533,3	0,6	532,7	0,3	532,4	0,1	532,3	0,1	532,2	0,1	532,1	0,0	532,1			
	6	5	0,005	520,8	0,1	520,8	0,5	520,3	0,7	519,6	0,5	519,1	0,4	518,7	0,0	518,7	0,0	518,7	0,1	518,6	0,0	518,6			
II	7	7	0,000	574,9	0,1	574,8	0,0	574,8	0,3	574,5	0,15	574,35	0,25	574,1	0,1	574,0	0,1	573,9	0,0	573,9	0,0				
	8	7	0,001	518,7	0,0	518,7	0,0	518,7	0,2	518,5	0,1	518,4	0,3	518,1	0,0	518,1	0,2	517,9	0,0	517,9	0,0				
	9	7	0,002	571,5	0,0	571,5	0,0	571,5	0,1	571,4	0,3	571,1	0,4	570,7	0,1	570,6	0,05	570,55	0,0	570,5	0,0				
	10	7	0,003	555,2	0,1	555,1	0,0	555,1	0,2	554,9	0,2	554,7	0,3	554,4	0,1	554,3	0,0	554,3	0,0	554,3	0,0				
	11	7	0,004	610,8	0.2	610,6	0,1	610,5	0,2	610,3	0,2	610,1	0,2	609,9	0,1	609,8	0,1	609,7	0,0	609,6	0,0				
	12	7	0,005	575,7	0,0	575,7	0,0	575,7	0,4	575,3	0,3	575,0	0,2	574,8	0,0	574,8	0,1	574,7	0,0	574,7	0,0				
III	13	9	0,000	550,6	0,0	550,6	0.1	550,5	0,0	550,5	0,25	550,25	0,25	550,0	0,2	549,8	0,1	549,7	0,1	549,6	0 0	549,6			
	14	9	0,001	551,7	0,0	551,7	0,0	551,7	0,1	551,6	0,1	551,5	0,3	551,2	0,1	551,1	0,0	551,0	0,0	551,0	0,0	551,0			
	15	9	0,002	541,9	0,1	541,8	0,0	541,8	0,1	541,7	0,2	541,5	0,4	541,1	0,0	541,1	0.1	541,0	0,1	540,9	0,0	540,9			
	16	9	0,003	567,5	0,0	567,5	0 0	567,5	0,1	567,4	0,25	567,15	0,25	566,9	0,1	566,8	0,1	566,7	0,0	566,7	0,0	566,7			
	17	9	0,004	591,0	0,0	591,0	0,0	591,0	0,0	591,0	0,2	510,7	0,3	590,4	0,1	590,3	0,1	590,2	0,1	590,1	0,0	590,1			
	18	9	0,005	580,0	0,1	579,9	0,0	579,9	0,1	579,8	0,2	579,6	0,3	579,3	0,05	579,25	0,05	579,2	0,0	579,2	0,0	579,2			
IV	19	11	0,000	567,4	0.0	567,4	0.1	567,3	0,0	567,3	0,1	567,2	0,2	567,0	0,1	566,9	0,2	566,7	0.2	566,5	0,1	566,4	0,05	566,35	
	20	11	0,001	605,1	0,0	605,1	0.0	605,1	0,0	605,1	0,1	605,0	0,1	604,9	0,1	604,8	0,3	604,5	0,1	604,4	0,1	604,3	0.05	604,25	
	21	11	0,002	511,9	0,1	511,8	0,0	511,8	0,0	511,8	0,0	511,8	0,1	511,7	0,1	511 6	0,2	511,4	0,1	511,3	0,1	511,2	0,1	511,1	
	22	11	0,003	568,4	0,0	568,4	0,0	568,4	0,0	568,4	0,05	568,35	0,05	568,3	0,1	568,2	0,1	568,1	0,1	568,0	0,1	567,9	0,1	567,7	
	23	11	0,004	554,0	0.0	554,0	0,1	553,9	0,0	553,9	0,1	553,8	0,0	553,8	0.05	553,75	0,15	553.6	0,1	553,5	0,1	553,4	0,1	553,3	
	24	11	0,005	546,1	0,0	546,1	0,0	546,1	0,1	546,0	0,1	545,9	0,0	545,9	0,2	545,7	0,2	545,5	0,1	545,4	0,1	545,3	0,1	545,2	

Steigt der ursprüngliche Alkoholgehalt noch höher, also auf 11 g, wie bei Serie IV, so wird die höchste Kohlensäuremenge bei einem Chlorammoniumzusatze von 0,001 g pro 100 ccm entwickelt, aber die Gärung wird hier doch ohne Chlorammonium bedeutend intensiver durchgeführt. Sehr stark hemmend hat auch hier wieder ein Zusatz von 0,003 g Chlorammonium gewirkt.

Wir haben durch diesen Versuch folgendes gefunden:

Ursprünglicher Alkoholgehalt g	Stärkste Vergärung bei g NH_4Cl	Schwächste Vergärung bei g NH_4Cl
5	0,005	0,003
7	0,004	0,003
9	0,002	0,003
11	0,00—0,001	0,003



Kurve 1.

Je höher also der ursprüngliche Alkoholgehalt steigt, um so geringer braucht der Chlorammoniumzusatz nur zu sein, um die stärkste Gärung hervorzurufen. Andere Mengen des Chlorammoniumzusatzes rufen eine mehr oder weniger große Hemmung der Gärung hervor.

Es war nun die Frage, ob bei anderen Ammoniumsalzen sich eben dieselben Verhältnisse fänden, und gleichzeitig schien es nötig, die obigen Resultate durch einen Kontrollversuch zu festigen. Zu letzterem Zwecke wurde in genau gleicher Weise ein Kontrollversuch angesetzt und es ergaben sich dieselben Resultate, wie aus den beigegebenen Kurven hervorgeht.

Kurve 1 p. 28.

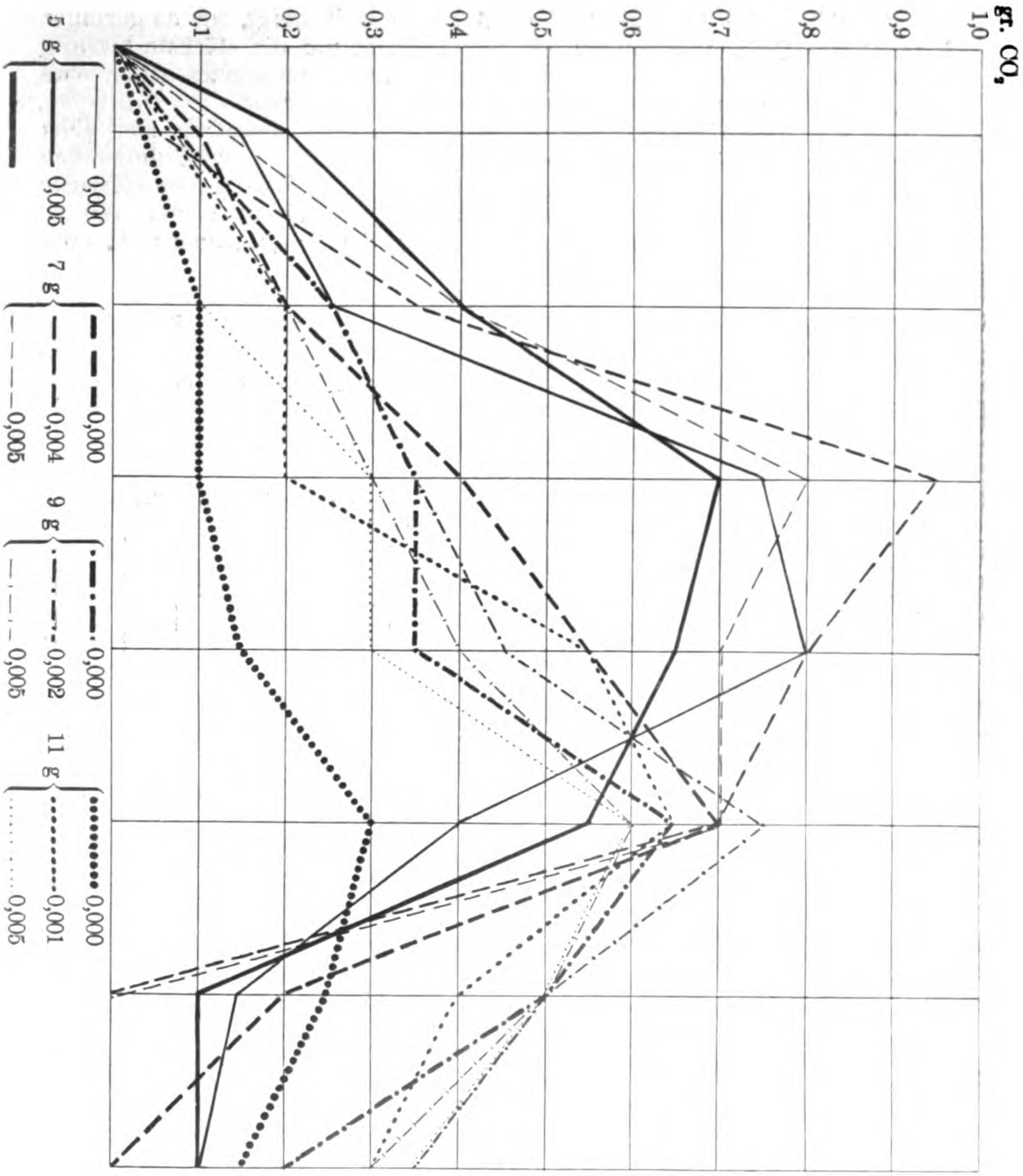
Was die Versuche mit anderen Ammoniumsalzen anbetrifft, so wurden vorläufig Ammoniumkarbonat und Ammoniumtartrat einer Prüfung unterzogen. Zu den Versuchen wurde wieder der Wein „Geisenheimer 1906 Solonis Leideck“ gewählt und sonst die Vorbedingungen in genau gleicher Weise erfüllt wie bei dem vorigen Versuche angegeben ist. Die Resultate waren folgende:

I. Zusatz steigender Mengen von Ammoniumkarbonat.

Serie	No. d. Flasche	% Alk.-Geh.	g Zusatz von Am.-Karb.	1. Tag	Differenz	2. Tag	Differenz	3. Tag	Differenz	4. Tag	Differenz	5. Tag	Differenz	6. Tag	Differenz	8. Tag	Differenz
I	25	5	0,000	557,3	**0,4**	556,9	**0,7**	556,2	**0,65**	555,55	**0,55**	555,00	**0,1**	554,9	**0,1**	554,8	
	26	5	0,001	529,4	**0,2**	529,2	**0,5**	528,7	**0,5**	528,2	**0,6**	527,6	**0,3**	527,3	**0,2**	527,1	
	27	5	0,002	621,6	**0,4**	621,2	**0,7**	620,5	**0,6**	619,9	**0,6**	619,3	**0,1**	619,2	**0,2**	619,0	
	28	5	0,003	493,2	**0,9**	492,3	**0,5**	491,8	**0,6**	491,2	**0,6**	490,6	**0,1**	490,5	**0,0**	490,5	
	29	5	0,004	570,1	**0,5**	569,6	**0,6**	569,0	**0,6**	568,4	**0,6**	567,8	**0,1**	567,7	**0,15**	567,55	
	30	5	0,005	593,9	**0,35**	593,55	**0,75**	592,8	**0,8**	592,0	**0,4**	591,6	**0,1**	591,5	**0,2**	591,3	
II	31	7	0,000	544,6	**0,2**	544,4	**0,4**	544,0	**0,55**	543,45	**0,95**	542,5	**0,2**	542,3	**0,0**	542,3	
	32	7	0,001	582,7	**0,3**	582,4	**0,5**	581,9	**0,9**	581,0	**0,7**	580,3	**0,2**	580,1	**0,1**	580,0	
	33	7	0,002	549,3	**0,1**	549,2	**0,8**	548,4	**0,6**	547.8	**0,6**	547,2	**0,1**	547,1	**0,05**	547,05	
	34	7	0,003	533,9	**0,5**	533,4	**0,7**	532,7	**0,5**	532,2	**0,7**	531,5	**0,0**	531,5	**0,0**	531,5	
	35	7	0,004	556,2	**0,35**	555,85	**0,95**	554,9	**0,5**	554,4	**0,7**	553,7	**0,0**	553,7	**0,1**	553,6	
	36	7	0,005	550,7	**0,4**	550,3	**0,8**	549,5	**0,7**	548,8	**0,7**	548,1	**0,1**	548,0	**0,0**	548,0	
III	37	9	0,000	534,9	**0,25**	534,75	**0,35**	534,4	**0,35**	534,05	**0,65**	533,4	**0,5**	532,9	**0,2**	532,7	
	38	9	0,001	548,8	**0,1**	548.7	**0,3**	548,4	**0,45**	547,95	**0,75**	547,2	**0,4**	546,8	**0,3**	546,5	
	39	9	0,001	594,5	**0,2**	594,3	**0,3**	594,0	**0,45**	593,55	**0,65**	592,9	**0,5**	592,4	**0,15**	592,25	
	40	9	0,003	613,7	**0.25**	613,45	**0,35**	613,1	**0,25**	612,85	**0,65**	612,2	**0,5**	611,7	**0,35**	611,35	
	41	9	0,004	582,3	**0,2**	582,1	**0,3**	581,8	**0,45**	581,35	**0,65**	580,7	**0,5**	580,2	**0,3**	579,9	
	42	9	0,005	490,5		490,0											
IV	43	11	0,000	490,5	**0,1**	490,4	**0,1**	490,3	**0,0**	490,3	**0,0**	490,3	**0,3**	490,0	**0,25**	489,75	
	44	11	0,001	568,6	**0,2**	568,4	**0,2**	568,2	**0,55**	567,65	**0,75**	566,9	**0,4**	566,5	**0,3**	566,2	
	45	11	0,002	508,7	**0,2**	508,5	**0,1**	508,4	**0,2**	508,2	**0,6**	507,6	**0,5**	507,1	**0,35**	506,75	
	46	11	0,003	620,8	**0,1**	620,7	**0,3**	620,4	**0,6**	619,8	**0,6**	619,2	**0,4**	618,8	**0,35**	618,45	
	47	11	0,004	579,6	**0,1**	579,5	**0,3**	579,2	**0,5**	578,7	**0 6**	578,1	**0,5**	577,6	**0,2**	577,4	
	48	11	0,005	515,3	**0,1**	515,2	**0,3**	514,9	**0,2**	514,7	**0,6**	514,1	**0,5**	513,6	**0,35**	513,25	

Kurve 2 p. 30.

Wir haben bei dieser Versuchsanordnung das Resultat, daß bei einem ursprünglichen Alkoholgehalte von 5 g die stärkste Vergärung mit einem Ammoniumkarbonatzusatz von 0,005 g pro 100 ccm (Flasche No. 30) stattfindet und zwar wurde die größte Kohlensäuremenge am 4. Tage entwickelt. Ohne $(NH_4)_2CO_3$-zusatz (Flasche No. 25) wurde die größte Kohlensäuremenge bereits am 3. Tage entwickelt, doch blieb sie in diesem Falle um 0,1 g hinter derjenigen der Flasche 30 zurück.



Kurve 2.

Bei 7 g ursprünglichem Alkoholgehalt haben wir die stärkste Vergärung bei 0,004 g Ammoniumzusatz. 0,005 g und noch mehr 0,00 g Zusatz bleiben hingegen um 0,15 resp. 0,25 g entwickelter Kohlensäure zurück.

Steigern wir den Alkoholgehalt auf 9 g, so vergärt die Flüssigkeit mit einem Zusatze von 0,002 g stärker, als mit 0,000 resp. 0,005. Bei 11 g Alkohol finden wir die größte Kohlensäuremenge bei 0,001 g Zusatz, hingegen bleiben die Weine mit 0,000 resp. 0,005 wieder zurück.

II. Zusatz steigender Mengen von Ammoniumtartrat.

Dieselben Verhältnisse finden wir, wenn wir als Ammoniumsalz statt des Karbonates das Tartrat verwenden. Es wir daher nicht nötig sein, auch in diesem Falle Tabellen und Kurven anzuführen, sondern es wird folgende kurze Zusammenstellung genügen:

Ursprünglicher Alkoholgehalt	Ammoniumtartratzusatz	
	stärkste Vergärung	schwächste Vergärung
g	g	g
5	0,005	0,000
7	0,004	0,005
9	0,003	0,004—0,005
11	0,001	0,004—0,005

Zusammenfassung der Resultate.

Fassen wir die Resultate noch einmal ganz kurz zusammen, so sehen wir, daß mit steigendem ursprünglichen Alkoholgehalt der Weine immer geringere Mengen von Ammoniumsalzen notwendig sind, um eine möglichst starke Gärung hervorzurufen.

Es tritt nun die Frage auf, ob der Einfluß der Ammoniumsalze nur auf eine Reizwirkung zurückzuführen ist, oder ob er bei der Hefevermehrung eine Rolle spielt. Um dies zu entscheiden, wurde nochmals eine Versuchsreihe mit Chlorammonium angesetzt und jede Flasche in der bekannten Weise (vergl. Klöcker, Gärungsorganismen, 2. Aufl. 1906. p. 111 ff.) mit einer bestimmten Anzahl Hefezellen, und zwar 287 950 Zellen, geimpft. In der Hauptgärung wurde diese durch Zusatz von genau 20 ccm absoluten Alkohols zu jeder Flasche unterbrochen und nun die Zählung ausgeführt. Aus jeder Flasche wurden 3 Proben entnommen und von jeder 20 Tropfen gezählt. Die Mittelzahlen (auf 50 ccm umgerechnet) ergaben:

Flasche No.	Gärtemperatur Grad C	Alkohol g	NH_4Cl	Ausgesäte Hefe	Hefe in der Hauptgärung
2	26	7	0,000	287 950	49 750 000
4	26	7	0,001	287 950	47 500 000
6	26	7	0,002	287 950	48 000 000
8	26	7	0,003	287 950	49 000 000
10	26	7	0,004	287 950	47 750 000
12	26	7	0,005	287 950	49 000 000
14	26	9	0,000	287 950	45 500 000
16	26	9	0,001	287 950	47 125 000
18	26	9	0,002	287 950	46 875 000
20	26	9	0,003	287 950	48 250 000
22	26	9	0,004	287 950	49 375 000
24	26	9	0,005	287 950	46 375 000
28	26	11	0,000	287 950	46 375 000
30	26	11	0,001	287 950	46 250 000
32	26	11	0,002	287 950	49 500 000
34	26	11	0,003	287 950	48 875 000
36	26	11	0,004	287 950	44 250 000
38	26	11	0,005	287 950	46 250 000

Diese Zahlen weisen so geringe Unterschiede auf, daß man von einem Einfluß der Ammoniumsalze auf die Hefevermehrung nicht sprechen kann, es ist also wohl vielmehr eine Reizwirkung dieser Salze, welche die mehr oder weniger großen Unterschiede bei der Umgärung von Weinen mit oder ohne Ammoniak hervorbringt.

Diese Arbeit wurde in der pflanzenphysiologischen Versuchsstation der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim am Rhein ausgeführt, und ich möchte nicht verfehlen, dem Vorstand, Herrn Dr. Kroemer, für seine Anregungen auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Ueberführung von normalen, echten Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen.

[Aus der schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Bern-Liebefeld.]

Von Prof. Dr. **R. Burri** und Dr. **J. Thöni.**

Das Vermögen der Schleimbildung scheint unter den Bakterien weit verbreitet zu sein, ja, man darf es vielleicht als allgemeine Eigenschaft bezeichnen, die aufs engste mit der Quellbarkeit der Zellmembran zusammenhängt. Während aber gewisse Arten, wie z. B. Bac. mesentericus oder Bact. aërogenes (Kapselbakterien), die Schleimbildung auf bestimmten Nährböden fast nie vermissen lassen, scheint bei anderen ein entsprechender Vorgang nur gelegentlich aufzutreten, um bei fortgesetzter Reinzüchtung des Organismus früher oder später wieder zu verschwinden. So verhält es sich bei der Gruppe der echten Milchsäurebakterien, zu welchen einerseits die Erreger der spontanen Milchgerinnung, also Bact. lactis acidi Leichm. samt den ihnen nahestehenden pathogenen und nicht pathogenen Streptokokken, andererseits die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien vom Typus des Bac. casei ε v. Freud. (Bac. Delbrücki, Holligers Sauerteichstäbchen etc.) gehören. Ueber die Ursachen des Auftretens der Schleimbildung bei Milchsäurebakterien ist noch sehr wenig bekannt. Weigmann[1]) teilt mit, daß Reinkulturen gewisser Vertreter des Typus Bact. lactis acidi Leichm. bei fortgesetzter Züchtung in Milch zuletzt an Säurebildungsvermögen einbüßen und schleimig-fadenziehend werden. Hierbei dürften, wie auch der genannte Autor hervorhebt, Degenerationserscheinungen im Spiele sein. Im folgenden möchten wir über Versuche berichten, bei denen sich in deutlicher Weise ein anderes Moment, nämlich die Züchtung in Mischkultur mit einer Kahmhefe, als Ursache des Auftretens einer intensiven Schleimbildung bei echten Milchsäurebakterien erkennen ließ.

Bei Untersuchungen über normale und fadenziehende Milchsäurebakterien hatten wir öfters Gelegenheit, zu beobachten, daß die Eigenschaft der Schleimbildung bei dieser Bakteriengruppe großen Schwankungen unterworfen ist. Nicht nur zeigten die schleimbildenden Parallelformen (Rassen) der einzelnen Arten gewisse Unterschiede in der Konstanz und Intensität der Schleimbildung, auch innerhalb einer Rasse verhielten sich die einzelnen Stämme oft sehr verschieden. In den meisten Fällen zeigten die aus fadenziehenden Rohmaterialien frisch isolierten

---

1) Weigmann, H., Versuch einer Einteilung der Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 825.)

Organismen das Schleimbildungsvermögen am ausgesprochensten, um dann allmählich davon zu verlieren. Meistens ist es im Laufe der Zeit zum vollständigen Verschwinden der betreffenden Eigenschaft gekommen.

Andererseits fiel uns auf, daß Kulturen von normalen Milchsäurebakterien, denen eine aus Käsereilab stammende Mycoderma beigeimpft war, oft mit auffallender Plötzlichkeit eine schleimige fadenziehende Beschaffenheit annahmen. Wir erklärten uns diese Erscheinung zuerst als auf Fremdinfektion beruhend. Da sich aber solche Beobachtungen wiederholten und bei der bakteriologischen Untersuchung als Ursache des Fadenziehendwerdens jeweils ein Organismus gefunden wurde, welcher, abgesehen von der Schleimbildung, durchaus dem in die betreffende Kultur eingesäten entsprach, so stiegen doch Zweifel an der Richtigkeit dieser Ansicht auf.

Besonders bemerkenswert war folgendes Beispiel:

Um über den Einfluß der im normalen Käsereilab regelmäßig auftretenden Mycoderma auf das Wachstum und die Säurebildung von Bac. casei ε Aufschluß zu erlangen, impften wir vier Kolben, die mit ca. 800 ccm steriler Schotten beschickt waren, aus der gleichen Stichkultur eines normalen Stammes der genannten Milchsäurebakterie und zwei davon außerdem mit der Kahmhefe. Alle vier Kulturen wurden im Brutschrank bei ca. 35° C aufgestellt und bildeten den Ausgangspunkt von zwei Reihen von Säurebestimmungen. Bei der ersten Reihe wurden in der Regel alle 2 Tage aus je einem Kolben der mit und ohne Mycoderma angesetzten ε-Kulturen 10 ccm Flüssigkeit entnommen und mittels $\frac{N}{4}$ Natronlauge auf den Säuregrad geprüft. Bei der zweiten Reihe, bei welcher im Gegensatz zur ersten eine beständige Weiterimpfung der Kulturen auf frischen sterilisierten Nährboden (ca. 800 ccm Schotten) erfolgte, fand die Säureprüfung zu gleicher Zeit statt. Während aber bei der ersten Reihe das zu prüfende Material während der ganzen Versuchsdauer den Ausgangskolben entnommen wurde, handelte es sich hier um Material aus sukzessive angelegten Kulturen, die jeweils zur Zeit der letzten Säurebestimmung, d. h. in der Regel vor 2 Tagen, geimpft worden waren. Mit den Säurebestimmungen wurde in beiden Reihen eine Prüfung der Kulturen auf ihre Konsistenz verbunden. Ueber das Ergebnis dieser Versuchsserie gibt die folgende Tabelle I Aufschluß, in welcher die Säuregrade auf 100 ccm Schotten berechnet sind.

(Siehe Tabelle I p. 34.)

Zunächst sei bezüglich des Säuerungsverlaufes darauf hingewiesen, daß in allen vier Rubriken die Zahlen keine stetigen Reihen bilden, sondern einer vielfach gebrochenen Kurve entsprechen. Es scheint hier ein beständiger Wechsel im Ueberwiegen der säurebildenden und säurezerstörenden Funktion zum Ausdruck zu kommen. Bei A (ohne Ueberimpfung) haben wir ein prächtiges Beispiel für die säurezehrende Tätigkeit der Kahmhefe, die sich als luftbedürftiges Wesen gegenüber dem Bac. casei ε um so mehr im Vorteil befindet, je mehr die Kultur infolge der beständigen Probeentnahme an Schichthöhe verliert. Bei B (regelmäßige Ueberimpfung) tritt sowohl bei ε allein als bei ε + Mycoderma eine Erstarkung des Säurebildungsvermögens in die Erscheinung, eine Tatsache, welche für die Annahme, daß die bei ε + Mycoderma aufgetretene Schleimbildung das Zeichen einer Degeneration der Milchsäurebakterien sei, keine Stütze bildet.

Tabelle I.

Datum	A. Ohne Ueberimpfung				B. Regelmäßige Ueberimpfung			
	Bac. casei ε		Bac. casei ε + Mycoderma		Bac. casei ε		Bac. casei ε + Mycoderma	
	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit
28. März	24,0	normal	29,0	normal	21,0	normal	31,0	normal
30. „	30,0	„	37,0	„	27,5	„	30,5	„
1. April	34,0	„	34,0	„	23,0	„	31,0	„
3. „	35,0	„	31,0	„	25,0	„	31,0	„
6. „	47,0	„	29,0	„	47,0	„	47.0	„
8. „	50,0	„	30,0	„	33,0	„	37,0	„
10. „	49,0	„	32,0	„	25,0	„	42,0	„
12. „	51,0	„	36,0	fadenziehend	32,0	„	43,0	„
14. „	51,5	„	37,5	„	39,0	„	41,0	„
16. „	52,5	„	38,0	„	37,0	„	36,0	„
18. „	50,0	„	37,0	„	32,0	„	41,0	„
20. „	50,0	„	34,0	„	36,0	„	39,0	„
22. „	52,0	„	35,0	„	34,0	„	38,0	„
24. „	51,5	„	31,0	schwach fadenziehend	28,0	„	37,0	„
26. „	51,0	„	29,0	„ „	30,0	„	33,0	„
28. „	52,0	„	23,0	„ „	34,0	„	37,0	„
30. „	52,0	„	23,0	stark fadenziehend	38,0	„	41,0	„
2. Mai	53,0	„	32,0	sehr stark fadenziehend	36,0	„	40,0	„
4. „	51,0	„	32,0	mäßig fadenziehend	37,0	„	41,0	„
6. „	50,0	„	31,0	„ „	33,0	„	39,0	„
8. „	51,0	„	26,0	„ „	34,0	„	39,0	„
10. „	52.0	„	23,0	„ „	45,0	„	42,0	„
12. „	54,0	„	25,0	normal	41,0	„	40,0	„
14. „	53,0	„	21,0	„	39 0	„	32,0	„
16. „	53,0	„	21,0	sehr stark fadenziehend	35,0	„	39,0	„
18. „	54,0	„	27,0	„ „ „	42,0	„	35,0	„
20. „	52,0	„	27,0	wenig fadenziehend	34,0	„	38,0	„
22. „	53.0	„	26,0	„ „	32,0	„	35,0	„
25. „	54,0	„	22,0	stark fadenziehend	45,0	„	46.0	„
27. „	54,0	„	19,0	wenig fadenziehend	37,0	„	38,0	„
29. „	55,0	„	17,0	sehr stark fadenziehend	40,0	„	42,0	„
31. „	55,0	„	20,0	„ „ „	39,0	„	38,0	„
2. Juni	54,0	„	17,0	stark fadenziehend	44,0	„	44,0	„
5. „	55,0	„	15,0	„ „	48,0	„	52,0	„
7. „	55,0	„	10,0	mäßig fadenziehend	42,0	„	46,0	„
9. „	55,0	„	7,0	normal	41,0	„	42,0	„
12. „	58,0	„	4,0	„	38,0	„	48,0	fadenziehend
15. „	56,0	„	5,0	„	46.0	„	51.0	schwach fadenziehend
17. „	57,0	„	6.0	„	28,0	„	28,0	stark fadenziehend
19. „	58,0	„	4,0	„	41,0	„	41,0	„ „
22. „	55,0	„	8,0	„	50,0	„	49,0	„ „
24. „	57,0	„	4,0	„	37,0	„	42,0	sehr stark fadenziehend
26. „	58,0	„	4,0	„	37,0	„	43,0	„ „ „
29. „	57,0	„	3,0	„	50,0	„	55,0	„ „ „
2. Juli	57.0	„	3,0	„	49,0	„	50,0	„ „ „
4. „	57,0	„	4,0	„	36,0	„	33,0	„ „ „
6. „	61,0	„	3,0	„	40,0	„	35,0	„ „ „
8. „	60,0	„	2,0	„	37,0	„	39,0	„ „ „
10. „	59,0	„	2,0	„	39,0	„	37,0	„ „ „
13. „	61,0	„	2,0	„	49,0	„	51,0	„ „ „
17. „	59,0	„	1,0	„	52,0	„	49,0	„ „ „

Was nun die Konsistenz der Flüssigkeit betrifft, so fällt auf den ersten Blick das verschiedene Verhalten der ohne und mit Mycoderma gewachsenen ε-Kulturen auf. Wo Bac. casei ε in Reinkultur war, zeigten die betreffenden Kulturflüssigkeiten stets eine normale Beschaffenheit. In den Mischkulturen von Bac. casei ε + Mycoderma dagegen wurden die Schotten nach einiger Zeit fadenziehend, und zwar bei den Kulturen der Serie A (ohne Ueberimpfung) schon nach 14 Tagen, bei der in Intervallen von 2—3 Tagen übergeimpften Kultur nach 75 Tagen. Von beiden fadenziehenden Kulturflüssigkeiten sind, sobald das abnormale Verhalten beobachtet wurde, Aussaaten in Schottenagarschüttelkulturen gemacht worden. Es fanden sich neben normalem Mycoderma-Wachstum fadenziehende Kolonieen, die als ε-Kolonieen anzusprechen waren und die sich, abgesehen von ihrer schleimigen Beschaffenheit, durch nichts von den normalen, bei Beginn des Versuches verwendeten ε unterschieden.

Wie hat man sich nun dieses Auftreten von fadenziehenden Bakterien in Kulturflüssigkeiten, die mit normalen Organismen beschickt waren, zu erklären? Eine Fremdinfektion war bei dem häufigen Oeffnen der Gefäße wohl möglich; doch fällt auf, daß dann nur gerade die beiden Mischkulturen infiziert wurden und die gleich behandelten Reinkulturen nicht. Ferner scheint uns auch der Umstand gegen eine Außeninfektion zu sprechen, daß aus den fadenziehenden Schotten Organismen isoliert und als Verursacher der Schleimbildung ermittelt wurden, die zu der gleichen Art gehören wie diejenigen, die ursprünglich als normale eingeimpft worden waren. Eher ließe sich denken, daß vielleicht die ε-Stammkultur nicht rein gewesen sei, d. h. daß sie neben normalen auch fadenziehende Stäbchen enthalten habe, die erst unter gewissen Bedingungen (bei Wachstum mit der Kahmhefe) die Oberhand erreichten. Für diese Ansicht scheint das Verhalten der Kulturflüssigkeit ε + Mycoderma der Serie A zu sprechen, indem sich in dieser Kultur, nachdem sie fadenziehend geworden war, etwas wie ein Kampf abspielte. Bald ist sie schwach, bald stark, bald wieder mäßig fadenziehend, um plötzlich während einigen Tagen normal zu sein. Dann wird sie wieder fadenziehend und behält diese Eigenschaft längere Zeit in verschiedener Intensität bei, um zuletzt doch wieder die normale Beschaffenheit anzunehmen und sie auch bis zum Ende des Versuches zu behaupten. Auch das Verhalten der Kulturflüssigkeit ε + Mycoderma der Serie B ließe sich auf diese Weise erklären. Das gegenüber der Serie A erst spätere Auftreten der Zähflüssigkeit könnte hier als eine Folge der Begünstigung der nicht fadenziehenden Stäbchen durch die regelmäßige Ueberführung in frische Schotten gedeutet werden; dadurch würde der Kampf verlängert, um aber schließlieh doch auch zugunsten der fadenziehenden Stäbchen zu endigen. Diese konnten sich nun, nachdem sie einmal die Oberhand erlangt und sich an die Verhältnisse angepaßt haben, durch die fortwährende Uebertragung in günstige Bedingungen auch weiterhin behaupten. In den ε-Reinkulturen dagegen würde das die fadenziehenden Stäbchen begünstigende Moment, sofern es an die Anwesenheit der Kahmhefe gebunden ist, überhaupt fehlen, weshalb diese Kulturen während der ganzen Versuchsdauer normal geblieben sind.

Lassen wir die Annahme, die Kulturen seien während der Versuchszeit mit fadenziehenden Stäbchen verunreinigt worden, oder sie hätten schon als Stammkultur fadenziehende Stäbchen enthalten, aus dem Spiel, so bleibt noch die Möglichkeit zu erwägen, daß diese Milchsäurebakterien die Fähigkeit besitzen, unter bestimmten Bedingungen in fadenziehende Rassen überzugehen. Mit den in der Tabelle niedergelegten Beobachtungen würde eine solche Annahme nicht im Widerspruch stehen. Die Betrachtung der Versuchsergebnisse führt uns in diesem Falle dazu, in der gemeinschaftlichen Kultur von Bac. casei ε und Mycoderma unter den beschriebenen Versuchsbedingungen eine der Ursachen der Entstehung schleimbildender Rassen echter Milchsäurebakterien zu erblicken.

Um aber diese Annahme auf ihre Stichhaltigkeit zu prüfen, war es notwendig, die beiden anderen in Betracht gezogenen Erklärungsmöglichkeiten, nämlich Fremdinfektion während des Versuches und Rassenmischung, schon in den Ausgangskulturen, von vornherein auszuschließen. Bezüglich der ersten Möglichkeit glaubten wir diese Forderung zu erfüllen, indem wir als Versuchsgefäße nicht große Kolben, sondern gewöhnliche, allerdings etwas große Reagenzgläser wählten. Doch ist bei solchen laut tausendfacher Erfahrung die Infektionsgefahr bei sorgfältigem Arbeiten für einfache Ueberimpfungen sozusagen gleich Null. Um die Unsicherheit bezüglich der zweiten Möglichkeit, d. h. einer allfälligen Rassenmischung schon in den Ausgangskulturen, auszuschließen, gab es nur ein Mittel, nämlich die Anwendung der Einzellkultur. Nur diese konnte uns die Gewißheit geben, daß die unter bestimmten Züchtungsbedingungen entstandenen schleimbildenden Milchsäurebakterien wirklich die Nachkommen von nicht schleimbildenden Generationen waren und nicht etwa ihr Dasein einer nach und nach eingetretenen Begünstigung von vereinzelten, schon der Ausgangskultur anhaftenden, aber verborgen gebliebenen Stäbchen der schleimbildenden Rasse verdanken. Um aus nicht schleimbildenden Reinkulturen des Bac. casei ε je eine einzelne Zelle zu isolieren und dann zur Vermehrung zu bringen, bedienten wir uns der von R. Burri[1]) angegebenen Tuschepunktkultur[2]). Leider ist die für die folgenden Versuche verwendete Mycoderma nicht auch sicher als Einzellkultur zu betrachten, indem es sich um eine aus Lab frisch isolierte Reinkultur im gewöhnlichen Sinne handelt. Dieser Umstand dürfte indessen für die aus dem Versuch gezogenen Schlüsse kaum in die Wagschale fallen, da es sich ja um den Nachweis einer Veränderung der Milchsäurebakterien und nicht der Kahmhefe handelt.

Als Nährboden dienten, wie bei der früheren Versuchsserie, gewöhnliche Schotten. Die mit Watte verschlossenen Reagenzgläser wurden mit 40 ccm der Nährflüssigkeit beschickt und im Autoklaven bei 115° während einer Viertelstunde sterilisiert. Von den zwei nach dem Einzellverfahren hergestellten ε-Kulturen stammte die eine aus Käse, die andere aus Lab, auch die Kahmhefe war, wie schon bemerkt, aus Lab frisch gewonnen. In ähnlicher Weise wie früher wurden 2 Gläser mit ε allein und 2 mit ε + Mycoderma geimpft und bei 35° gehalten, diesmal aber alle

---

1) Burri, R., Eine einfache Methode zur Reinzüchtung von Bakterien unter mikroskopischer Kontrolle des Ausgangs von der einzelnen Zelle. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1907. p. 95.)

2) Für die vorliegenden, zu obligater Anaërobiose neigenden Milchsäurebakterien hat sich folgende Modifikation des Verfahrens bewährt: Mit einer geeigneten Emulsion der Bakterien in sterilisierter verdünnter Tusche macht man in größeren Abständen zerstreut möglichst feine Punkte auf einer erstarrten Schicht gewöhnlicher Nährgelatine und bedeckt jeden Punkt mit einem sterilisierten Deckglassplitter von ca. 2 × 2 mm. Nun werden die einzelnen Punkte mikroskopiert und hierauf die Splitter, welche einen Punkt mit einzelnem Stäbchen bedecken, mittels steriler Pinzette von der Gelatineschicht abgehoben und in sterilisierte Peptonschotten geworfen.

4 Kulturen jeweilen nach 2—3 Tagen auf frische sterile Schotten übergeimpft. Nach der Ueberimpfung, die sehr sorgfältig mittels Platinöse geschah, erfolgte in den alten Kulturen die Prüfung des Säuregrades in früher angegebener Weise. Gleichzeitig wurde die Kultur auf ihre Konsistenz untersucht und auch eine mikroskopische Prüfung vorgenommen. Bei der letzteren wurden sowohl Präparate im hängenden Tropfen, wie auch mit Methylenblau gefärbte hergestellt. Die Resultate dieser am 18. Mai begonnenen Versuchsserie sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt. Die Säuregrade beziehen sich wiederum auf 100 ccm der Kulturflüssigkeit.

Die Kulturflüssigkeiten mit ε allein zeigten bezüglich ihrer Konsistenz, auf welche wir hier das Hauptgewicht legen möchten, während der ganzen Versuchsdauer normale Beschaffenheit. Der eine Stamm, ε aus Käse, ging allerdings gegen Ende des Versuches ein. Anders war das Verhalten der mit Mycoderma gezüchteten ε-Schottenkulturen. In der ersten Zeit waren auch sie von normaler Viskosität. Aber schon bei der 7. Ueberimpfung zeigte ε aus Lab und bei der 9. Ueberimpfung auch ε aus Käse deutliche fadenziehende Beschaffenheit des Nährbodens, welche Eigenschaft bei den folgenden Ueberimpfungen beibehalten wurde. Als aber am 13. Juni, infolge eines Versehens, die Temperatur im Thermostaten von 35° auf 40—42° gebracht wurde, bei welcher Temperatur sich die Mycoderma nicht mehr entwickeln konnte, ergab die Prüfung der Mischkulturen am 16. Juni wieder normale Konsistenz. Diese Tatsache bildet einen weiteren Beleg für die von uns öfters gemachte Beobachtung, daß das Vermögen der Schleimbildung bei den Milchsäurebakterien oft überraschend schnell verloren gehen kann, obwohl es andererseits möglich ist, bei geeigneter Züchtung in Reinkulturen (also vollständig unabhängig von Mycoderma) die betreffende Eigenschaft durch zahlreiche Ueberimpfungen hindurch in ausgeprägter Weise zu erhalten.

Bemerkenswert ist auch das morphologische Verhalten der ε-Stäbchen bei Züchtung in Reinkultur und mit Mycoderma. Während sie in Reinkultur vorwiegend dünner sind und den Eindruck von schwächlichen Organismen erwecken, sind die in Mischkultur mit der Kahmhefe gehaltenen ε-Stäbchen dicker und besitzen überhaupt ein bedeutend kräftigeres Aussehen. Eigentümlich ist auch das Verhalten des Zellinhaltes der ε-Stäbchen in Mischkultur. Während nach der Isolierung die beiden ε-Stämme bei der Färbung mit durch Wasser verdünnter alkoholischer (polychromer) Methylenblaulösung eine gleichmäßige Tinktion des Plasmas aufwiesen, änderte sich das Bild sofort bei der Kultur mit Mycoderma in Schotten. Schon bei der ersten Ueberimpfung besaß eine große Zahl der Stäbchen rundliche Körner, die sich dunkelblau, oft auch violett bis deutlich rot vom übrigen hellblau gefärbten Plasma abhoben. Die Anzahl der Körner in einem Stäbchen variierte anfänglich von 1 bis 4, später wurden sie zahlreicher, um dann, als die Kulturflüssigkeiten fadenziehend geworden waren, meistens dicht aneinander gelagert, zu 10 bis 20 im Zellinhalt aufzutreten. In den ohne Mycoderma hergestellten ε-Kulturen ergaben die Präparate bei der ersten Ueberimpfung nur Stäbchen, deren Plasma gleichmäßig gefärbt war, später traten auch Zellen mit Körnerbildung auf, einige Male sogar ziemlich zahlreiche, jedoch konnte niemals diese große Zahl von Körnern in einer Zelle beobachtet werden, wie wir sie bei den Stäbchen der Mischkulturen gesehen haben. Auch bei früheren Versuchen war uns die Körnerbildung

Tabelle

Datum	Bac. casei ε aus Lab			Bac. casei ε aus Lab + Mycoderma		
	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Mikroskopischer Befund	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Mikroskopischer Befund
20. Mai	22,0	normal	Stäbchen gleichmäßig tingiert	21,0	normal	Stäbchen kräftig, einzelne besitzen Körner im Plasma
22. „	25,5	„	Stäbchen gleichmäßig tingiert, keine Körner	41,5	„	Beinahe alle Stäbchen besitzen zahlreiche Körner im Plasma
25. „	30,5	„	Stäbchen dünn, meistens gleichmäßig gefärbt	33,0	„	Stäbchen kräftiger als ohne Mycoderma. Stäbchen mit und ohne Körner im Plasma
27. „	24,0	„	Nur wenige zeigen Körnerbildung, eine große Zahl gleichmäßig tingiert	33,0	„	Beinahe alle zeigen Körnerbildung im Plasma. Stäbchen kräftig
29. „	29,0	„	Vorwiegend Stäbchen ohne Körner, nur vereinzelte, besonders kräftige weisen Körner auf	34,0	„	Vorwiegend Stäbchen mit Körnern
1. Juni	35,0	„	Stäbchen mit Körnerbildung eher zahlreicher als früher	30,5	„	Stäbchen mit und ohne Körnerbildung gleichzahlig
3. „	30,0	„	Zahlreiche Stäbchen mit Körnern	33,0	fadenziehend	Beinahe alle Stäbchen mit sehr zahlreichen Körnern im Plasma
5. „	25,0	„	Kräftige Organismen, vereinzelte lange Fäden. Nur wenige Organismen mit Körnerbildung	31,0	„	Kräftige Organismen, beinahe alle mit Körnern im Plasma
9. „	28,0	„	Meistens kräftige Organismen, nur selten mit Körnerbildung	47,0	stark fadenziehend	Alle Stäbchen dicht mit Körnern besetzt. Organismen kräftig
11. „	13,0	„	Mäßig dicke Stäbchen, viele mit Körnerbildung	39,0	sehr stark fadenziehend	Kräftige Individuen, beinahe alle mit Körnern dicht besetzt
13. „	14,5	„	Kurze, mäßig dicke Stäbchen; auf 4—5 kommt 1 Stäbchen mit Körnerbildung	30,5	sehr stark fadenziehend	Neben kräftigen Individuen auch dünne, verkrümmte Fäden, vorwiegend mit Körnerbildung
16. „	38,0	„	Meistens lange Stäbchen; keine Körnerbildung	33,0	normal, Mycoderma fehlt	Vorwiegend lange Stäbchen von mittlerer Dicke mit Körnern

II.

Bac. casei ε aus Käse			Bac. casei ε aus Käse + Mycoderma		
Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Mikroskopischer Befund	Säuregrad	Verhalten der Kulturflüssigkeit	Mikroskopischer Befund
22,0	normal	Stäbchen gleichmäßig tingiert	23,0	normal	Stäbchen mit Körnern im Plasma
32,5	„	Großzahl gleichmäßig tingiert, einige wenige besitzen Körner im Plasma	43,5	„	Alle Stäbchen mit zahlreichen Körnern im Plasma
27,5	„	Stäbchen dünn, nur wenige besitzen Körner im Plasma	32,5	„	Kräftige Organismen, beinahe alle mit Körnern im Plasma
26,0	„	Nur wenige Stäbchen mit Körnerbildung. Organismen dünn	44,0	„	Beinahe alle Stäbchen mit Körnern im Plasma. Individuen kräftig
31,0	„	Stäbchen alle gleichmäßig gefärbt, keine Körner sichtbar	56,0	„	Großzahl der Stäbchen mit Körnern im Plasma
35,5	„	Nur ganz vereinzelte Stäbchen mit Körnerbildung; eine große Zahl gleichmäßig tingiert	29,0	„	Stäbchen ohne Körnerbildung eher zahlreicher als die Individuen mit Körnern
36,0	„	Zahlreiche Stäbchen mit Körnerbildung	44,0	„	Großzahl der Stäbchen dicht mit Körnern besetzt
33,5	„	Viele Stäbchen mit Körnerbildung	33,0	„	Beinahe alle Stäbchen mit Körnerbildung. Kräftige, große Zellen
31,0	„	Organismus dünn, nicht kräftig; selten mit Körnerbildung	55,0	schwach fadenziehend	Neben Organismen mit Körnern auch andere ohne Körnerbildung. Individuen kräftig
Kein Wachstum			44,0	stark fadenziehend	Mäßig kräftige Stäbchen, alle dicht mit Körnern besetzt
Kein Wachstum			39,0	sehr stark fadenziehend	Vorwiegend längere, mäßig dicke Stäbchen mit Körnerbildung
Kein Wachstum			40,0	normal, Mycodermadecke fehlt	Vorwiegend lange Stäbchen mit Körnern im Plasma

bei Organismen aus fadenziehenden Materialien aufgefallen, so daß die Vermutung nahegelegt wird, dieses eigentümliche Verhalten des Zellinhaltes könnte mit der Bildung von Schleim in irgend einem Zusammenhang stehen. Ueber diese Frage sind noch weitere Versuche notwendig. Was die Natur dieser Körner anbetrifft, so stellten wir fest, daß sie die Reaktionen, die Arthur Meyer[1]) für Volutin anführt, ergeben. Zweifellos handelt es sich hier um die gleichen oder ähnliche Gebilde, wie sie bereits von A. Rodella[2]) bei säureliebenden Bacillen im Säuglingsstuhle beobachtet worden sind.

Von Interesse für die Frage der Ueberführung von normalen Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen dürfte auch noch die folgende Beobachtung sein, die bei Gelegenheit von Versuchen, über die in anderem Zusammenhang berichtet werden soll, gemacht worden ist.

Aus 5 Labproben, die aus verschiedenen Gegenden der Schweiz bezogen wurden, isolierten wir je einen Stamm von Bac. casei ε, und aus einer dieser Proben auch die Kahmhefe. Alle Organismen wurden nach dem Einzellverfahren gewonnen. Sie waren von normaler Beschaffenheit. Von jeder dieser 5 ε-Kulturen wurden nun 2 Stämme, a und b, welche also Nachkommen der gleichen Zelle darstellten, verwendet. Mit diesen 10 ε-Stämmen impften wir je 2 Reagenzgläser, die 10 ccm sterile Peptonschotten enthielten, im ganzen also 20 Gläser. Von diesen Peptonschottenkulturen erhielten 10 noch eine weitere Impfung mit der Kahmhefe, so daß wir wiederum 2 Reihen von je 10 ε allein und 10 ε + Mycoderma hatten. Diese Kulturen wurden im Brutschrank bei ca. 35° C gehalten. Zweimal in der Woche, am Montag und am Donnerstag, erfolgte die Ueberimpfung aller 20 Kulturen auf frische sterile Schotten. Der Versuch wurde am 20. Okt. 1908 eingeleitet und wird zurzeit noch fortgesetzt. Bis jetzt (Ende November) zeigte die Reihe der ε-Reinkulturen stets normales Verhalten. Bei den ε + Mycoderma-Kulturen war das Sediment von ε1a bereits am 2. Nov. schleimig und am 5. Nov. die Kulturflüssigkeit mäßig fadenziehend, welche Eigenschaft bis jetzt eher noch in verstärktem Maße beibehalten wurde. Die übrigen 9 Stämme dieser Reihe weisen immer noch normale Konsistenz der Nährflüssigkeit auf. Aussaaten von allen 10 ε + Mycoderma-Kulturen in Peptonschottenagar ergaben bei den 9 Stämmen Kolonieen von normaler Beschaffenheit, bei ε1a waren die ε-Kolonieen sehr stark fadenziehend.

Auffallen muß es, daß der Parallelstamm ε1b, der von der gleichen Zelle abstammt und unter ganz gleichen Bedingungen gehalten wurde wie ε1a, nicht fadenziehend geworden ist. Wir erblicken in dieser Tatsache einen unzweideutigen Ausdruck für das Naturgesetz der Variation, nach welchem die Nachkommen eines Individuums im allgemeinen weder unter sich noch mit der Ausgangsform vollständig identisch sind.

Wir können das Ergebnis der mitgeteilten Versuche kurz dahin zusammenfassen, daß es uns an der Hand von Einzellkulturen gelungen ist, den exakten Nachweis zu leisten, daß normale Stämme echter Milchsäurebakterien vom Typus des Bacillus casei ε v. Freudenreich in kurzer Zeit sich in Stämme mit ausgeprägtem Schleimbildungsvermögen umwandeln können. Unerläßliche, aber nicht unter allen Umständen

---

1) Arthur Meyer, Mikroskopisches Praktikum. Bd. II. Jena 1903.

2) Antonio Rodella, Ueber die sogenannten säureliebenden Bacillen im Säuglingsstuhle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. p. 717.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

genügende Bedingung für das Auftreten dieser Umwandlung war bei unseren Versuchen die gleichzeitige Entwickelung einer Kahmhefe in den Kulturen. Die Eigenschaften der fadenziehend gewordenen Stämme, im besonderen das ungeschwächt sich äußernde Säurebildungsvermögen, weisen nicht auf einen Degenerationsvorgang hin.

Ob beim Auftreten von schleimbildenden Parallelformen der echten Milchsäurebakterien unter natürlichen Verhältnissen die Mitwirkung von Kahmhefe bezw. von Sproßpilzen notwendig ist, oder ob die auf Grund der Mischkulturen geschaffenen besonderen Bedingungen auch durch andere Faktoren bewirkt werden können, entzieht sich vorläufig der Beurteilung. Die gegenseitige Beeinflussung von Milchsäurebakterien und Kahmhefe haben wir zum Gegenstand einer größeren Untersuchung gemacht, deren Ergebnisse wir später in diesem Centralblatt bekanntzugeben gedenken.

Bern, im November 1908.

Nachdruck verboten.

Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien.

Zur Abwehr gegen Hans Pringsheim.

Von **G. Bredemann.**

In Heft 8, p. 547 der „Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft“ finde ich einen Artikel des Herrn Hans Pringsheim, in welchem er mich wegen meiner vorläufigen Mitteilung: „Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden, bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien“ [1]) heftig angreift und dabei u. a. die Priorität „für die Regeneration der Bindung des freien Stickstoffes durch Clostridien“ und für „die Methode für diese Regeneration“ für sich in Anspruch nimmt. Auf seine übrigen Angriffe gegen mich komme ich in meiner demnächst an dieser Stelle erscheinenden ausführlichen Arbeit über den Bacillus amylobacter zurück, da eine Begründung meiner Entgegnungen Tatsachen vorausnehmen müßte, die erst in dieser Arbeit, deren Erscheinen Pringsheim vor Veröffentlichung seiner Angriffe gegen mich abzuwarten nicht für nötig befand, mitgeteilt werden.

Hier möchte ich hauptsächlich seine „Nachschrift“, welche sich auf meine vor kurzem in diesem Centralblatt veröffentlichte Arbeit [2]) über den Bacillus asterosporus bezieht, berücksichtigen.

Pringsheim schreibt: „Nachschrift: Wer die Notwendigkeit obiger Ausführungen — in denen er neben seinen Prioritätsansprüchen mich durch allerhand Verdrehungen der Tatsachen schwer verdächtigt — anzweifelt, wird sich eines Besseren belehren, wenn er erfährt, daß die Beobachtung über die Regeneration der Fähigkeit zur Bindung des Luftstickstoffes durch eine neue Arbeit von Bredemann neue Bedeutung gewonnen hat. In dieser Arbeit machte Bredemann auf Grund der

---

1) Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XXVIa. 1908. p. 362.

2) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XXII. 1908. p. 44.

genannten von mir gemachten Entdeckung, deren er wieder keine Erwähnung tut und die er sich so wieder selbst zuschreibt, die an sich interessante Beobachtung, daß noch eine andere Form von Bakterien, der Bac. asteroporus A. M., ansehnliche, wenn auch nicht so große Mengen Luftstickstoff, wie das Clostridium americanum, binden kann. Ich stehe nicht an, hier die Vermutung auszusprechen, daß sich meine Regenerationsmethode auch in Zukunft noch für die Auffindung weiterer stickstoffbindender Mikroorganismen fruchtbar erweisen wird."

Diese Bemerkung Pringsheims bezieht sich auf einen Satz in seiner Arbeit: „Ueber ein stickstoffassimilierendes Clostridium" [1]). Dieses Clostridium hat sich nach meinen Untersuchungen als identisch mit meinem Bac. amylobacter herausgestellt.

Pringsheim sagt: „Es ist mir jetzt gelungen, das als ‚eine alkoholbildende Bakterienform' von mir beschriebene Clostridium durch folgenden Kunstgriff zum Wachstum in stickstofffreier Lösung zu bringen, nachdem im Stickstoffstrom in Winogradskyscher Lösung keine Gärung zu erreichen war. Winogradskysche Lösung wurde mit Calciumkarbonat und einer Menge von schwefelsaurem Ammoniak, die weniger Stickstoff, als zur Vergärung des vorhandenen Zuckers nötig war, enthielt, versetzt und aus einer frischen Kartoffelkultur geimpft. Gärung trat auf diese Weise bald ein und setzte sich noch fort, als aller Erwartung nach die geringe Stickstoffmenge des schwefelsauren Ammons schon verbraucht war. Wurde aus einer solchen mindestens eine Woche alten Gärung in Winogradskysche Lösung ohne Stickstoffzusatz abgeimpft, so ging auch sie nach ein paar Tagen in Buttersäuregärung unter Abgabe eines Gemisches von Wasserstoff und Kohlensäure über, wobei eine, später durch die Analyse bestätigte Stickstoffassimilation aus der Luft wahrscheinlich wurde."

Diese Entdeckung, die Pringsheim sich selbst zuschreibt, daß man einem in stickstofffreier Lösung nicht gärenden Bacillus amylobacter durch Zusatz von Ammonsulfat zu der stickstofffreien Lösung die Fähigkeit der Stickstoffbindung wieder erteilen kann, ist nun aber bereits 11 Jahre vor Pringsheim von Winogradsky gemacht worden.

Winogradsky[2]) schreibt in Tabelle II (p. 21) beim Versuch 4: „Marche et durée de la fermentation: Au commencement, le liquide est libre d'azote. Après ensemencement, on n'y remarque aucune trace de végétation pendant 42 jours. On a ajouté alors la dose d'azote, indiquée dans la colonne précédente (2,1 mg Ammon-Stickstoff). Au bout de 4 jours, pleine fermentation qui est finie vers le 20—22me jour" und beim Versuch 5: „Libre d'azote au commencement. Ensemencée richement reste sterile 22 jours. On donne de l'azote ammoniacal (sulfate). Au boute de 5 jours, fermentation énergique qui dure 20 à 25 jours."

Mit diesem Wachstum war auch Stickstoffbindung vorhanden[3]). Der Stickstoffgewinn der ersten Kultur betrug (auf 4 g Dextrose) 11,53 mg, der der zweiten (auf 5,3 g Dextrose) 12,54 mg N[4]).

---

[1]) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 795.

[2]) Arch. des sciences biologiques. Tome III. 1895. No. 4. Kap. IV. p. 19—26 des Sonderdruckes.

[3]) Ungefähr gleichzeitig mit Winogradsky wandte Puriewitsch dasselbe Verfahren an bei Schimmelpilzen, welche in stickstofffreier Lösung nicht wuchsen, wohl aber nach Zusatz von Ammoniumsulfat und dann auch freien Stickstoff banden. (Ber. d. deutsch. botan. Ges. Bd. XIII. 1895. p. 342).

[4]) Winogradskys Versuche wurden allerdings nicht mit Reinkulturen, sondern

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nun machte allerdings Pringsheim die Beobachtung, daß man durch Impfen aus einer solchen wieder assimilierenden Kultur seines Bakteriums immer neue Winogradskysche Lösungen, die keinen gebundenen Stickstoff enthielten, zur Gärung und Assimilation bringen könne.

Diese Entdeckung ist neu für „Clostridien". An sich ist sie aber auch nicht neu, denn nicht anders kann man eine kurze Mitteilung Heinzes deuten, welche bereits im Frühjahr 1905, also 2 Jahre vor der Pringsheimschen Veröffentlichung, erschien: „Eine Notiz über alte Reinkulturen von Azotobacter und den Wert sogenannter Passagekulturen"[1]). Heinze konnte „durch spezielle Bodenpassagekulturen [flüssige Kulturen][2]) mit geeigneten Stickstoffverbindungen . . . . diese Organismen ganz bequem gewissermaßen neu beleben, sie also beim Ueberimpfen in sogenannte stickstofffreie Nährlösungen in diesen wiederum zu üppiger Entwickelung und damit zu einer reichlichen Stickstoffsammlung veranlassen." Nähere Mitteilungen über die Methodik dieser Bodenpassagekulturen, die von Heinze in Aussicht gestellt wurden, sind meines Wissens noch nicht erschienen[3]).

Diese Mitteilung Heinzes scheint Pringsheim nicht zu kennen, denn er erwähnt in einer Anmerkung seiner zweiten Mitteilung[4]) (p. 254) nur, daß auch Azotobacter seine Fähigkeit zur Stickstoffbindung infolge der Züchtung im Laboratorium verlieren kann, worauf Löhnis (dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 584) aufmerksam mache, nicht aber, daß auch Azotobacter wieder aufgefrischt werden könne. Es käme demnach, wenn wir die Prioritätsfrage, auf die Pringsheim solchen Wert legt, streifen wollen, Heinze nicht nur die Priorität der Entdeckung zu, daß man stickstoffsammelnde Bakterien, welche die Fähigkeit, in stickstofffreien Lösungen zu wachsen, verloren haben, durch geeignete Kultur wieder zum Wachsen in dieser stickstofffreien Lösung und zur Stickstoffassimilation in ihr bringen kann, sondern auch die Priorität der Benutzung der Erde zu diesem Zwecke, letztere war mir bei Beginn meiner Versuche allerdings nicht bekannt, doch hat das keine Bedeutung, denn wenn zwei Forscher unabhängig voneinander Entdeckungen machen, gebührt demjenigen die Priorität, der die Entdeckung zuerst bekannt gegeben hat.

Ferner ist zu beobachten, daß Pringsheim ebenso wie auch Heinze nicht etwa gezeigt oder gesagt haben, daß es sich hier um eine allgemeine Methode der Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens handele, nach der man bei Bakterien verschiedener Natur diese Fähigkeit wieder erzeugen könne. Allerdings bemerkt Pringsheim in seiner zweiten Mitteilung: „Ueber die Verwertbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffes und die Ver-

---

mit dem Gemisch der drei Mikroben ausgeführt, doch ändert das nichts an der Tatsache, daß das Stickstoffbindungsvermögen unwirksam gewordener Kulturen durch Zusatz von Ammonsulfat wieder regeneriert wurde.

[1]) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 175.

[2]) In einer Anmerkung in den Annales mycolog. Bd. IV. Frühjahr 1906 findet sich noch der Zusatz: „möglicherweise auch feste Kulturen".

[3]) Neuerdings suchte auch Krainsky (dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XX. p. 729) die Wirksamkeit von Azotobacter-Kulturen zu erhöhen durch „Passieren der Kulturen durch Gipskreideplatten, Bodengipsplatten und Bodengipskreideplatten".

[4]) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 248.

breitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde“ [1]) nebenbei: „Schon früher schloß ich aus der Uebereinstimmung (soll wohl heißen: Aehnlichkeit, denn die Uebereinstimmung war von ihm nicht experimentell nachgewiesen) von Clostridium americanum mit der Grassberger und Schattenfrohschen Klasse Granulobacter mobilis non liquefaciens, die nach den Angaben dieser Autoren weit verbreitet ist, auch auf eine weite Ausbreitung von Clostridien, welche nach der von mir angegebenen Methode wieder zur Stickstoffbindung gebracht werden können und als deren ersten Vertreter ich das Clostridium americanum beschrieben habe. Solche Clostridien lassen sich nach meiner elektiven Kulturmethode, nämlich dem Impfen steriler Kartoffel, die mit Wasser bedeckt ist, aus Boden, vor allem aber auch aus Samen gewinnen. Auf dem geschilderten Wege wurden bis jetzt drei Clostridienkulturen isoliert, durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 80° von vegetativen Zellen befreit und nach dem Auskeimen der überlebenden Sporen durch langsamen Entzug des gebundenen Stickstoffes zur Assimilation des Luftstickstoffes gezwungen“ [2]).

Würde Pringsheim der beobachteten Tatsache die weite Tragweite, die er ihr jetzt beilegt, zugemessen haben, daß wir in der Winogradskyschen Methode eine allgemeine Methode für die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Mikroorganismen in Händen hätten, so würde er diesem Gedanken wohl ohne Frage intensiveren Ausdruck gegeben haben.

Ich habe in den Titel meiner vorläufigen Mitteilung deshalb den Satz: „Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann“ aufgenommen, weil ich die Tatsache in das rechte Licht gesetzt habe, daß es eine allgemeine Methode gibt, mit der man bei sehr verschiedenartigen Organismen (Bac. asterosporus, Azotobacter, Bac. amylobacter) diese durch Schwächung der Individuen verloren gegangene Partialfunktion der Zelle wieder hervorrufen kann. Daß ich in meiner Arbeit über Bac. asterosporus nicht näher auf diese Frage eingegangen bin, hat darin seinen Grund, daß ich diese wichtige Erörterung für meine Hauptarbeit, für die ich meine Asterosporus-Arbeit ausdrücklich als Vorarbeit bezeichnet habe, aufsparen wollte. Auch betone ich, daß die historischen Erörterungen, die ich hier gemacht habe, dem Materiale nach aus meiner bald erscheinenden Hauptarbeit stammen.

Als ich bei meinen im Frühjahre 1905 begonnenen und Mitte 1908 zum Abschluß gebrachten Untersuchungen über die anaëroben glykogenspeichernden, bisher als Granulobacter, Clostridium, Amylobacter etc. bezeichneten Bakterien zu dem Ergebnis kam, daß die meisten dieser in ihrem morphologischen und physiologischen Verhalten, sofern sie nur in gleichartiger Weise gezüchtet wurden, sich nicht voneinander unterscheiden, war der Beweis erbracht, daß alle untersuchten Stämme Vertreter ein und derselben Species seien. Da einige der zur Untersuchung herangezogenen Bakterien Stickstoff sammelten, mußte ich selbstverständlich den Nachweis zu erbringen versuchen, daß auch alle anderen Stämme, die keinen Stickstoff speicherten, die Fähigkeit zur Stickstoffbindung besäßen. Diesen Nachweis habe ich nach folgender Methode erbracht:

---

[1] a. a. O. p. 254.

[2] Pringsheim teilt nicht mit, ob sie nicht auch ohne „den langsamen Entzug des gebundenen Stickstoffes“ assimilierten, denn es ist ein Irrtum von ihm, wenn er in seinen Mitteilungen wiederholt annimmt, daß der Bac. amylobacter durch Kultur auf stickstoffhaltigen Substraten die Stickstoffassimilationsfähigkeit in stickstoffreier Lösung immer sofort verlieren müsse. Ich besaß Stämme, die 2 Jahre auf Dextrose-Pepton-Agar kultiviert waren und trotzdem in stickstofffreier Lösung noch kräftig gärten und Stickstoff assimilierten. Mit der Zeit verloren nach meinen Erfahrungen alle Stämme des Bac. amylobacter ihre Fähigkeit, in stickstofffreier Lösung zu wachsen, ob sie damit aber auch die Fähigkeit der Assimilation des Luftstickstoffes ganz allgemein verloren hatten, ist nicht ohne weiteres selbstverständlich, denn diese können sie, wie Winogradsky nachwies, danach wieder in stickstoffhaltigen Substraten durchführen.

Ausgehend von der Annahme, daß eine durch die Kultur auf künstlichen Nährböden hervorgerufene Schwächung der aus der Erde isolierten Bakterien auch zum Verluste der Stickstoffassimilationsfähigkeit geführt hatte, versuchte ich, die Bakterien durch den natürlichen Lebensbedingungen etwas näherkommende Kultur ganz allgemein wieder zu kräftigen und wählte hierzu die Kultur in Erde, indem ich die Bakterien in sterile Erde einimpfte, sie in dieser eine zeitlang wachsen ließ und sie dann aus der Erde wieder in stickstoffreie Lösung übertrug. Die kräftigende Wirkung dieser „Erdpassage“ war eine überraschende und nie versagende. Alle, auch die ältesten, zum Vergleich herangezogenen Originalkulturen, welche unter verschiedenen Namen schon lange in der Literatur bekannt waren — wie z. B. Bac. amylobacter I Gruber, Bac. saccharobutyricus v. Klecki, Granulobacter butylicum Beijerinck, Granulobacter pectinovarum Beijerinck u. van Delden, ein Gasphlegmonestamm, zwei von v. Freudenreich aus Schabziegerkäse isolierte Buttersäurebakterien — wurden durch die Erdpassage so gekräftigt, daß sie nach dieser Behandlung in stickstofffreier Lösung wieder kräftige Gärung und auch Stickstoffbindung hervorriefen, die sich auch beim Uebertragen in neue stickstofffreie Lösungen fortsetzte.

Eine ähnliche, aber nicht so prompt wirkende Kräftigung konnte ich erzielen durch einfachen Zusatz von steriler Erde zur stickstofffreien Nährlösung.

Gleichzeitig habe ich dann die Kultur in Erde zur Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens beim Bac. asterosporus A. M. versucht. Ich wurde zu diesem Versuche veranlaßt durch die früher gelegentlich von mir gemachte Beobachtung, daß ein Stamm in stickstoffreier Lösung lebhafte Gärung hervorrief und ferner durch den Umstand, daß der Bac. clostridioides Haselhoff et Bredemann, an dem wir damals Stickstoffbindung konstatiert hatten[1], sich bei meinen jetzigen eingehenderen Untersuchungen als identisch mit dem Bac. asterosporus erwies. Auch beim Bac. asterosporus hatte die Erdpassage dieselbe kräftigende Wirkung, alle alten Stämme konnten durch dieselbe wieder zur Stickstoffassimilation gebracht werden.

Die Erdpassage, die ich mit der Tierpassage vergleichen möchte, hat vielleicht mit der Stickstoffpassage garnichts direkt zu tun. Ich konnte leider damals den Grund ihrer Wirkung nicht näher untersuchen, hatte diese Untersuchungen, die inzwischen begonnen sind, aber selbstverständlich in mein Arbeitsprogramm aufgenommen. Ob es sich, wie es Pringsheim von vornherein klar ist, bei der begünstigenden Wirkung der Erde, die außer von Heinze[2]) auch bereits von Beijerinck und

---

[1] Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 415.

[2] Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 175.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

van Delden[1]) und von Keding[2]) an Azotobacter beobachtet wurde, „nur um den gebundenen Stickstoff und nicht um andere in der Erde enthaltene Stoffe handelt“ [3]), werden diese Untersuchungen lehren, von vornherein anzunehmen ist es durchaus nicht, nachdem ich selbst fand, daß ein einfacher Zusatz von steriler Erde zur stickstoffreien Nährlösung nicht dieselbe prompte Wirkung hatte. wie die Erdpassage und nachdem auch inzwischen Krzemieniewski[4]), welcher sich mit dem die Stickstoffbindung begünstigenden Zusatz von Erde in Azotobacter-Kulturen beschäftigte, fand, daß der wässerige Bodenauszug, den man im Autoklaven bei 120° bekommt, die Wirksamkeit des Azotobacter in keinem Falle erhöht, daß aber die natürlichen Humusstoffe, sei es in Form von löslichen oder gar unlöslichen Salzen denselben Einfluß wie Erdezusatz auf die Reinkulturen von Azotobacter ausübten[5]).

Ebenso ist es durchaus noch fraglich, ob Stickstoffzusatz den Bac. asterosporus regenerieren würde, wenn es auch nicht ausgeschlossen ist.

Auf in der „Nachschrift“ weiter noch enthaltene Kleinigkeiten möchte ich nicht eingehen und unterlasse deshalb z. B. auch die Besprechung des unlogischen Satzes: „ . . . machte Bredemann auf Grund der von mir gemachten Entdeckung, deren er wieder keine Erwähnung tut und die er sich so wieder selbst zuschreibt, die . . . . Beobachtung, daß usw.“

Die Beurteilung des Tones seiner gegen mich gerichteten Veröffentlichung überlasse ich den Fachgenossen, welche sich für den Gegenstand meiner Untersuchungen interessieren.

In der genannten Abhandlung beansprucht Pringsheim außer für die oben erwähnten zwei Punkte noch die Priorität

3) für „die Beobachtung der weiten Verbreitung stickstoffbindender Bakterien“,

4) für „die Hypothese der allgemeinen Fähigkeit zur Stickstoffbindung bei Buttersäurebakterien des Typus mobilis non liquefaciens“.

Ohne mich hier auf Einzelheiten einzulassen, da ich diese Punkte ebenso wie die noch übrigen sämtlich falschen oder verdrehten Behauptungen seiner gegen mich gerichteten Auslassungen in Fußnoten zu meiner demnächstigen ausführlichen Arbeit über den Bac. amylobacter A. M. et Bredemann zu erledigen gedenke, möchte ich schon hier nur z. B. bemerken:

---

[1]) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.

[2]) Wissensch. Meeresunters. Neue Folge. Bd. IX. 1906. p. 275.

[3]) Pringsheim, Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXVIa. 1908. p. 547.

[4]) Bull. de l’academ. d. sciences de Cracovie. Classe d. sciences mathém. et natur. 1907. p. 746.

[5]) Nachschrift während der Korrektur: Vergl. vorzüglich auch die soeben erschienene Arbeit von Krzemieniewski: „Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beij.“ (Bull. de l’acad. de Cracovie. Classe d. sc. mathém. et natur. Nov. 1908. p. 929.) Der Verf. wies in derselben nach, daß ein Zusatz von Humus aus Erde — gleichgültig, ob in Gestalt von freier Säure oder von K-, Na- oder Ca-Salzen — eine namhafte Steigerung der Stickstoffbindung durch den Azotobacter, der in Reinkultur auf gewöhnlichen stickstofffreien Nährböden stets nur geringe Mengen von Stickstoff zu binden vermag, herbeigeführt. Eingehende Untersuchungen führten den Verf. zu dem Schluß, „daß die Humusstoffe nicht als Stickstoffquelle, sondern auf irgend eine andere, vorläufig uns unbekannte Weise den Azotobacter zu einer üppigeren Entfaltung seiner Lebensfunktionen und zu einer energischeren Stickstoffbindung anregen. Wie sich dieser Einfluß tatsächlich äußert, darüber könnte man vorläufig nur hypothetisch urteilen.“ Auch beim „Granulobacter“ steigerte ein Zusatz von Humus die Tätigkeit der Stickstoffbindung.

ad 3. Die genannte Beobachtung ist längst vor Pringsheim gemacht worden [Winogradsky[1]), Behrens[2]), Benecke und Keutner[3]), Keutner[4]), und auch von Haselhoff und mir[5]), siehe Kap. II: „Das Vorkommen anaërober stickstoffsammelnder Bakterien im Boden und auf den Blättern verschiedener Pflanzen“ überschrieben].

ad 4. Die Hypothese ist längst vor Pringsheim ausgesprochen worden [Beijerinck und van Delden[6]) 1902, p. 32: „da wir aber Grund haben, für alle Granulobacter-Formen anzunehmen, daß sie . . . freien Stickstoff assimilieren können“, und p. 42: „Wir betrachten es als gesichert, daß alle Arten von Granulobacter, anaërobe und aërobe, unter Umständen imstande sind . . . in Reinkultur den freien Stickstoff zu binden“].

Man muß wohl annehmen, und zwar zu Herrn Hans Pringsheims Gunsten, er habe sich vor Veröffentlichung seiner Mitteilungen nicht mit den erforderlichen Kenntnissen der Literatur versehen.

Marburg, den 3. Dez. 1908.

Nachdruck verboten.

A contribution to the life history of bacillus (Ps.) radicicola Beij.

By Prof. **O. M. Ball,**

Agricultural and Mechanical College of Texas, Department of Botany, College Station, Texas.

During an examination, in 1905, of certain commercial preparations alleged to be pure cultures of Bacillus radicicola, a portion of a large compost heap from the horticultural greenhouse was used as one of the soils for testing the value of the preparations. It was observed that the compost heap already contained the bacterium in question since nodules in large numbers appeared on the roots of legumes grown in check pots of this soil. An enquiry was then made into the history of the compost heap. This heap had been thrown up in August, 1904, and consisted of well rotted stable manure, refuse such as leaves of cabbage and other vegetables, and garden earth, to which had been added scrapings from the gutters of the roads on the college grounds. These scrapings contained a great many roots of bur clover, which is an annual in this locality, appearing about the first of November and growing luxuriantly during the winter, to disappear in May or June. Its roots are invariably well supplied with the characteristic tubercles formed by the B. radicicola.

At the time when the presence of the bacillus in the compost heap was observed, the heap had lain for more than six months, and no leguminous or any other plant had grown on it during this time. Evi-

---

1) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 52.
2) Arbeiten der D. L.-G. Heft 64. 1901. p. 108.
3) Ber. d. Deutsch. botan. Ges. Bd. XXI. 1903. Heft 6.
4) Wissenschaftl. Meeresuntersuchungen. Neue Folge. Bd. VIII. 1904.
5) Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 392.
6) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.

dently, then, the bacteria forming nodules on the legumes growing in it must have remained active in the compost during a period of some seven or eight months, if they had been derived from the roots of the bur clover of the previous season, or else they were introduced into it by the seed of the plants used, or by some other means.

Furthermore, observation has repeatedly shown that the young roots of annuals such as our bur clover when growing in the field are quickly covered with nodules, though many months may have elapsed since the disappearance of the preceding crop of this plant. Bur clover often grows in a dense sod of Bermuda grass and we have observed it for years reappearing on lawns that are constantly clipped and on which no other legumes grow. Here also the roots are abundantly supplied with tubercles.

The writer was not able to find anything in the literature at his command that threw any certain light on the question of the length of time this organism can persist in soils either dry, or free from vegetation. Nobbe and others [1]), indeed, supposed that the tubercle forming bacteria are generally present in soils that have not borne legumes for a long time, since they are able to multiply outside of the plant.

The organism is well known to be highly resistant to heat, both dry and moist. Warmbold [2]) found that it could not be destroyed in infected soils by the usual sterilization temperatures. He states that he was able to sterilize soils when in small quantities, only after exposure to steam under two atmospheres pressure for two hours or by dry heat at 145 deg. for seven hours. Our own conclusions, based on large numbers of sterilizations, amply support these observations, though in all cases the quantities of soil used were never less than one, and usually about ten, pounds.

Bacillus radicicola in air dry earth.

On order to determine for what length of time the root tubercle bacterium could remain living in dry soil in which no legume, or other plant, was allowed to grow, about 300 pounds of the compost above described was turned into a tight pine box which had a closely fitting cover. A few sheets of drying paper were spread over the soil, the lid placed in position and the box set aside in a place where the earth could be kept free from dust and other probable means of contamination. The soil was never watered.

Because of the extreme difficulty and uncertainty which accompanies attempts at isolating B. radicicola from soils according to the usual bacteriological methods [3]), and since this station is no provided with adequate facilities for that kind of work, the writer chose the method of determining the presence or absence of the tubercle organism in soils by determining whether nodules were formed on the roots of legumes growing in them. This method has many disadvantages and necessarily entails slow and laborious observations extending over long periods of time. Another very serious disadvantage arises from the difficulty of keeping soil that has once been sterilized free from subsequent con-

---

[1]) Landw. Versuchsstat. Bd. XLV. p. 25.

[2]) Landw. Jahrb. Bd. XXXV. Heft 1—2. p. 23.

[3]) Landw. Jahrb. Bd. XXXV. Heft 6. p. 891 Heinze here states "It is very remarkable that B. radicicola has not yet with certainty been isolated from soils in which it is undoubtedly present".

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

tamination. On the other hand, this method appears to be the most natural way to approach the problem, though it must be observed that artificially sterilized soils can not be considered normal. Quite instructive results have been obtained, however, from this method.

One year after storing the soil, in February, 1906, three perfectly new six inch clay pots were filled with the earth after having been carefully sterilized. Three others were filled with the same earth and were sterilized at steam heat for four hours on each of three successive days. The six were then sown with alfalfa seed that had been sterilized by washing in a 1—1000 solution of bichloride of mercury followed by rinsing in distilled water. Sterilized forceps were used to place the seeds in the soil.

The pots of sterilized soils were designed to serve as checks, to determine whether a possible inoculation occurred subsequent to the planting of the seed or not. The pots were placed in a small house, 12 × 16 feet in size, made of chicken wire stretched over a wooden framework and covered with a light cotton cloth. Alfalfa was selected as the experimental plant because it was necessary, during the winter, to use semi-hardy plants, since the house could not be heated. Furthermore, it has been shown[1]), that the organism infecting bur clover (Medicago denticulata) will readily infect alfalfa and vice-versa.

Five or six plants were allowed to grow in each pot and were watered from a cistern under the roof of the Agricultural building where rain water is collected from a slate roof. A temporary supply of this was kept in the plant house in a carboy, into which a small quantity of ammonio-copper sulphate was added in order to check algal and other like growth. The carboy was well stoppered and the water drawn by means of a siphon tube.

After six weeks, several plants from each pot were taken up with sterile forceps and examined. Nodules were uniformly present on the roots of the plants growing in the unsterilized soil. One of the pots of sterilized soil contained one plant that had one nodule on its roots. The other two showed none whatever.

From this, it appeared that the bacterium was still living in soil that had been kept in an air dry condition for one year and that it had been completely killed in two of the other three pots by the process of sterilization, which was possibly incomplete in the third. However, there was still a possibility that the soil when taken from the box was really sterile but became contaminated during the course of the experiment, in the three pots of normal soil, but that in the others, the effects of sterilization were such as to prevent the growth of the bacterium. It is scarcely possible that the infection of the pots could have been induced by the water used, since this was the same for all pots.

A second examination was begun on Feb. 20 and especial care was taken to insure complete sterilization. Six pots were used as before, of which three were subjected to steam heat for five hours on each of three successive days. The soil was frequently stirred with a glass rod in order to insure thorough access of the steam to all parts. They were then plant with alfalfa seed that had been sterilized and the subsequent treatment of the pots was the same as described for the first set. About March 15, one plant from each pot was extracted with sterile forceps

---

1) Ball, Texas Bul. XCIII. 1906.

and examined for nodules. Very small ones were present on the roots of plants in the unsterilized earth, but none on those in the sterilized. All plants were taken up on April 10th. Nodules were present only on plants in the unsterilized soils and were very abundant in these.

About one year later, on January 25, 1907, an examination of the earth in the box was again begun. Six pots were used, of which three were sterilized as before. These and all other pots used in later work, were of galvanized iron, 8 inches wide and 8 high, and were provided with a watering tube at one side and near the bottom, which opened into a horizontal one on the inside that was perforated on the under side. All of the pots were sown to bur clover, the seed being sterilized as usual. The pots were placed under the same conditions and were watered as in the previous cases. On March 4, plants from the several pots were examined. Tubercles were found on the roots of plants in the unsterilized soil but none on those of the other pots. All of the plants were taken up on March 26 and nodules were found on all plants in unsterilized soil and none on the others.

The earth was again examined on November 1, 1907. The quantity of earth was now small and only three pots were available. The pots were new and before filling were sterilized in the autoclav for one hour at 115 deg. C. Bur clover was again used in this series. These pots were placed in a Wardian case, the screen wire top of which had been carefully covered with heavy paper. The case was placed in a room on the second floor of the laboratory building. These precautions were taken to prevent possible infection from dust blown by the wind, or otherwise. On December 15, or nearly three years after the earth had been placed in the box, nodules were found on roots of all plants in the three pots The conclusion that the bacteria were actually present in the air dry soils seems to be justified.

Experiments on soils in larger quantities.

Compost soil. In order to determine whether soil kept free from growth of higher plants, and also air dry, would maintain a bacterial flora of B. radicicola, a set of bins was built under a shelter that was open on all sides. Bin No. 1, was partly filled with soil from an old compost heap that had lain under the shelter of a large tree for several years. So far as could be determined from examination of the soil, no higher plant had grown on this heap for at least one year. The surface was quite bare of vegetation and no roots could be found beneath. At the same time, a pot test of this earth was made. Six sterilized pots were sown with sterile bur clover seed. These were placed in the plant house and after six weeks all showed an abundance of nodules on the roots of the plants growing in them.

One year later, on Feb. 1, 07, 12 pots were filled with this soil and placed in the plant house. Four of these were planted with seeds of Phaseolus multiflorus, four with Lupinus albus, and four with Trifolium Alexandrinum. These plants were used because they had never been cultivated at this place, and therefore would serve to show whether the bacteria in the soil, that had hitherto made use of entirely different plants as hosts, would infect these also.

The first set of four was planted with Phaseolus multiflorus seed that had been sterilized in the usual manner. By March 4,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

the plants were six inches high but no nodules had appeared on the roots of the plants examined. On April 13, the plants were ten inches high without any nodules having appeared. This absence of nodules does not necessarily indicate that the tubercle organism was absent from the soil, since later observation has shown that P. multiflorus when grown in the field in soil known to contain the organism, may or may not develop nodules, and never in abundance.

The second set of four pots was treated in a similar manner, but sown with Lupinus albus. These were placed alongside of the first set and on April 13, were plentifully supplied with tubercles.

The third set was treated in all respects like the others but was sown with Trifolium Alexandrinum. On March 4, the nodules were scanty, but by April 13, all were abundantly supplied.

These twelve pots were all growing under as nearly as possible indentical conditions. Though the possibility of infection subsequent to planting and watering was not rigidly excluded, it seems to be reasonably certain that the tubercle organism was from the first present in the soil.

Sandy soil. Bin 2 was filled with two wagonloads of light, sandy soil brought from a distance of about two miles. This soil was from an old field that had been for many years cultivated in cotton and corn, but none of the legumes used in the investigation had ever grown on it. Certain native legumes (Lespedeza repens; Trifolium Carolinianum; Lupinus Texensis; L. subcarnosus; Astragalus Brazoensis) were found growing here and there in the soil in this field in the spring following the taking of the sample and all of them had tubercles in abundance on their roots. During this spring, the field was planted, a part with alfalfa, and a part with peanuts (Arachis). The seed of the latter came from Virginia. Both plants developed nodules, the alfalfa somewhat scantily, the peanuts in astonishing abundance. No pots tests were made of this soil at the time of taking the sample but the observations above mentioned showed it to be supplied with bacteria. About a year after being placed in the bin, Feb. 10, 07, an examination of this soil was begun. Sixteen pots were used.

Four pots were sown with sterilized seed of T. Alexandrinum. By March 4, nodules had not appeared, but on April 13, they were present in abundance.

Four other pots of the same soil were planted with sterilized seed of Lupinus albus. The plants in these also were well supplied with nodules when examined on April 13, though they had not made their appearance on March 4.

Phaseolus multiflorus planted in four pots of this soil behaved exactly as in the experiments with the compost soil. The seed was planted on Feb. 10, and the plants were examined on March 4, and again on April 15; no tubercles were found at either examination. The plants were all thrifty.

In this series, a check set of four pots was sterilized in the autoclav at 120 deg. for two hours on each of three successive days. These pots were sown on Feb. 14, with sterilized bur clover seed, and were placed on the same bench and among the other pots of the series. They were not disturbed until April 12. At that time, one of them contained five plants; a second, three; and each of the others, two, and all were thrifty. In the pot containing five plants, one plant had one nodule on its roots. In no other case were nodules present. The root system of all these plants were well developed and spread throughout the soil in the pots.

Comparing the almost complete absence of nodules on the roots of plants growing in sterilized soils, with the universal appearance of the same on plants growing in unsterilized soil, it seems to have been proven that the bacteria causing them were at all times present in the soils used. The cases in which tubercles appeared on the roots of plants growing in sterilized soil may be explained by assuming that sterilization was not complete, though a possible contamination from other sources was not rigidly excluded. Such accidental contamination could not have been very widespread, as is shown by the fact that only one nodule was found on a plant.

A method of artificial inoculation of sterile soils.

When it became apparent that the tubercle organism would remain active for an indefinite period in soils devoid of leguminous vegetation, and even in dry soils, it appeared probable to the writer that a new method of supplying these organism to soils in which they were deficient could be devised by preparing compost heaps or bins of earth to which cultures of the desired bacterium could be added. The earth could then be kept on hand for use at any desired time.

It is scarcely necessary to review the long history of the many attempts to prepare cultures of this bacterium in such a way that they can be handled commercially and in an easy and inexpensive manner. The fluid cultures first prepared in Germany were not wholly successful, and it is quite certain that the lately devised method of drying the cultures on cotton has been less so. A still later method of fluid cultures is now being used by the National Department of Agriculture, and elsewhere. This is apparently very similar to the German method, though it seems to have met with more success.

We have found it a very difficult matter to carry out on the large scale the experiments planned to test the availability of the method of inoculation by means of specially prepared earth. The chief difficulty arises from the fact that we have so far not been able to find a soil in this state that is not already supplied with the tubercle organism. A second difficulty arises from the uncertainty of ascribing correctly any observed increase in the growth and vigor of a given legume to the effect of the bacterium or to that of the added compost.

That the tubercle bacterium when inoculated into a soil ought to thrive, if the soil conditions are right, would apparently follow directly from the work of Hellriegel[1]) who successfully used soil leachings to inoculate various legumes and from the results obtained by Nobbe, Hiltner, Schmid and Hotter[2]).

Before beginning these experiments, a somewhat thorough examination of the conditions of the soils in many parts of this state was made. Lupines, vetches, Astragalus, in fact, all legumes obtainable were examined, from every variety of soil in all portions of the state with the unvarying result that all were abundantly supplied with nodules. Some, however, such as Lupines, seem to furnish a better host for the parasite than others. Among the cultivated legumes, the only ones not generally found supplied with nodules, are Phaseolus multiflorus and varieties of the common English pea grown as a vegetable. Even these were sometimes scantily supplied.

---

[1]) Hellriegel, Zeitschr. Ver. deutsch. Rübenz.-Industr. 1888. Nov.

[2]) Landw. Vers.-Stat. Bd. XXXIX. 1891. p. 327.

Since it was impossible to find a soil not already infected with the tubercle organism and since these could not be killed out by keeping the soil in an air dry condition, it was necessary to use sterilized material to determine whether large quantitites of soil that was free from the organism could be inoculated by adding a small quantity of earth or other substance known to contain it, and whether the bacteria so added would spread throughout the soil and infect legumes growing it it.

The two following series of experiments were designed to enquire into these matters, as well as to ascertain the probable rate of movement of the organism through the soil, if inoculation and movement should occur.

In the first series, pots of the kind already described were used. In the second, a galvanized iron box, eight inches wide by eight deep, and thirty six long, was prepared. This box was provided at one end with a funnel for watering. This connected with a tube near the bottom and inside the box and which extended the full length of the latter. The tube was perforated only on the lower side so that currents of water during imbibition would be avoided as much as possible. The box was provided with a well fitting glass cover.

The pot experiments were begun on Sept. 15, 06. Eight pots of earth were sterilized in the autoclav at 120 deg. for four hours and set in the Wardian cases for about a week, in order to allow the soil to recover somewhat from the effects of the sterilization. Four of these were planted on Sept. 24, with sterilized alfalfa and four with sterilized bur clover seed. On November 10, these seedlings, of which there were from eight to twelve in each pot, were examined for nodules. The plants were taken up with a stout section lifter that was always carefully flamed in a Bunsen burner after each operation. All but two of the plants in each pot were thus examined. If no tubercles were found on the roots of those plants taken up it was assumed that the remaining were also free from them. The plants allowed to remain were at one side of the pot. A few drops of water from a beaker in which nodules from the roots of bur clover had been crushed were added from a pipette to the soil on the side farthest from the plants. The plants were watered with distilled water poured into the side spouts. On December 15, the plants were all taken up and all were found to have nodules on their roots.

A second series of the same number of pots was prepared exactly like the foregoing. On Dec. 3, four were planted with alfalfa and four with bur clover seed that had been carefully sterilized. The seedlings were examined on Jan. 15, and one pot, containing alfalfa, was found to be imperfectly sterilized and was discarded. The plants in the others were thinned out to one or two that stood near to one side and the pots inoculated with a bit of earth weighing about a gram, that had been taken from under a young bur clover plant in a near-by field. By Feb. 10, all plants had nodules on their roots.

Pressure of other duties required the laying aside of the work at this point. It was resumed in October, 07, when eight new pots were installed as in the preceding cases, and were planted on the

25, with sterilized alfalfa and bur clover seed. Three weeks later, no plant showed nodules. Two alfalfa and two bur clover pots were inoculated at the side farthest from the plants with a bit of earth inclosing a nodule from a bur clover plant. This bit of earth was placed in the soil at a depth of about one half inch. The other four pots, two alfalfa and two bur clover, were not inoculated, and were designed to serve as checks. All the pots were placed in the Wardian cases, on the second floor of the laboratory. On Jan. 2, 08, the inoculated pots all showed nodules, while the uninoculated did not, showing that the sterilization had been complete and that accidental inoculation did not occur subsequent to planting. This series of pots is now being continued.

These researches seemed to show conclusively that not only will B. radicicola proliferate in suitable soils, but that it will diffuse quite rapidly through the same. It remains to demonstrate on the large scale the applicability of this method of maintaining a constant supply of these bacteria for distribution over fields in which for any reason, they are not present.

Rate at which B. radicicola spreads through soil.

When it was observed, in December, 1906, that the tubercle organism would spread throughout soils into which it had been inoculated, an attempt was made to determine thae rate as which such diffusion takes place. The oblong box above described was used for this purpose, as well as some of the pot experiments already described. The box was filled about two thirds full of sterilized sandy soil in which a row of bur clover seed was planted along the middle. Every second plant was examined after attaining an age of about three weeks. After many attempts, a completely sterile soil was obtained. The box was then inoculated, at the end opposite the watering spout, by crushing a few nodules from bur clover roots in a little water and adding a few drops of this to the soil. By June 21, all plants were supplied with nodules. A second attempt at determining the rate was made on October 5, 07. At this time, two plants were left at one end of the box and the soil at the other inoculated as before. One of these taken up on November 1 but found to have no nodules. The remaining one was left until November 30 when nodules were found on its roots.

From these experiments and from those already mentioned in the previous section, it appears that the tubercle organism makes its way through the soil at a rate of about one half inch per day. Kellerman[1]) has recently shown that this organism in soils saturated with water, diffuses at the rate of one inch in 48 hours. He used small quantities of soil in rectangular glass boxes kept under aseptic conditions, from which he isolated the bacterium by the usual methods.

Incidental Observations.

Many facts have appeared during this work which appear to show that if a given soil does not contain the tubercle organism, its absence is due to some physical or chemical defect of the soil, and not to a lack of opportunity for inoculation. The investigations just described give only those results obtained from experiments which the writer thinks were

---

1) Science. N. S. Vol. XXV. No. 647. p. 806.

carried out to a successful conclusion under proper conditions and do not include the many failures to obtain complete sterilization, nor those instances where contamination had occurred from unexpected sources, as when, during one series of experiments, a violent storm, accompanied by great quantities of dust, stripped the plant house of its covering. All the plants under observation at that time were found contaminated.

Attention has already been drawn to the difficulty found in obtaining a native soil that was free from the tubercle bacteria. Legumes from every part of the state, from the Plains; from the black lands of middle and North Texas; from the sands and red soils of the Sabine; from the bottom lands of the Brazos and the Colorado rivers; from the coast country; from the semi-arid region of the Ro i Grande and from similar localities southwest of San Antonio have been examined, and in every case were found to be supplied with the characteristic tubercles. The flora of this State, especially of the southern and western portions is largely made up of leguminous plants. Indeed, in some sections, these are the predominating features of the vegetation. Without doubt, this has been true for many centuries and therefore it is nothing remarkable that the tubercle organism should be ubiquitous.

The parts of the state last mentioned furnish unparalleled opportunities for the study, in the field, of the much debated question of racial peculiarities and preferences in B. radicicola. These section are just now being developed from raw prairies and bottom lands, covered with a flora largely leguminous in character, into cultivated farms. On these farms, alfalfa, clovers, lupines, vetches and other legumes are being planted for the first time in the world's history. Cowpeas and the peanut are also largely planted in certain sections. We have repeatedly observed that these domesticated legumes, when first planted under such conditions, seem to find no difficulty, in any part of the state, in acquiring a plentiful supply of nodules. Certain legumes, such as the peanut, apparently adopt the wild bacterial flora more readily than others. It is certainly a most striking phenomenon that the peanut, when grown in soil never before cultivated, and which had for ages borne a flora largely composed of lupines, will at once show a supply of nodules on its roots in even greater profusion that did the native lupines. Again, many sections of the southwest are now planting alfalfa on soils never before used for growing legumes. Through the alfalfa seed, other foreign leguminous seeds are frequently introduced. In the great majority of cases observed, the alfalfa as well as the other strange legumes seem readily to assimilate the wild bacteria. This has been observed of various species of Trifolium; of Medicago denticulata and Arabica; of Melilotus alba and Indica and of various vetches.

These observations lead irresistibly to the conclusion that though B. radicicola many show in certain cases racial preferences for certain genera and species of legumes, these characteristics are not firmly fixed in the organism, but that it can and will readily adapt itself to a new host plant when its old one is no longer available.

Another fact that seems to be of especial significance has been observed during the study of the leguminous flora of this country, namely, that wherever any of the ordinary wild legumes, such as bur clover, lupines, vetches etc., and also alfalfa, had grown up through or around the droppings of cattle, not only were they much more vigorous than their neighbors only an inch or two removed, but their roots invariably

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

developed vastly more and larger nodules than the latter. This is strikingly the case when the droppings are from cattle fed on cotton seed hulls or meal, and is especially apparent on the poor soils of the "post oak region". Hundreds of such cases were examined and it has always been found that tubercles were plentiful on the roots of those legumes growing alongside of the droppings, while an inch away, in the hard and compact soil, the nodules would be scanty. Just what part of the increased growth of the plants under these conditions is due to the supply of food material in the manure and what to the excessive bacterial growth, is very difficult to determine, as also the question whether the observed increase in number and size of nodules, which would seem to indicate larger numbers of bacteria, or also greater activity, is due to the action of the manure or to a more favorable environment of the legumes. The following facts, observed during a series of experiments made to determine the value of the so-called "Nitro-culture", bear directly upon this point. A piece of ground containing about one acre was selected for this purpose. This land was at some distance from the cultivated fields of the Experiment Station, and had been used at one time by the department of entomology for experimentation with honey plants but had been planted solely in corn for three years preceding the work here described. The land was subdivided into eight nearly equal plots, all of which were sown with alfalfa. Lime was applied to certain of the plots at the rate of 1000 pounds per acre and stable manure at 8 tons. The inoculating material was procured from the Department of Agriculture, Washington, D. C., and was applied exactly as directed by the circular enclosed in the package. The following table gives the position and treatment of each plot:

Plot 1. Limed and inoculated.	Plot 2. No lime, inoculated.
Plot 3. No lime, inoculated.	Plot 4. Limed and inoculated.
Plot 5. Heavy stable manure, no lime, not inoculated.	Plot 6. No lime, not inoculated.
	Plot 8. Limed and inoculated.
Plot 7. No lime, not inoculated.	

The plots were sown on March 20, 1906, and the young plants were examined at intervals of two weeks up to June 10. At these examinations, fifty plants were taken from different parts of each plot in such manner as to secure the entire root system. After the fourth week, a few scattering nodules were found on plants in all plots, except in No. 5, where from the first until the last examination, there was an abundant supply of nodules. The numbers of nodules did not seem to increase in the other seven plots to any observable extent during the time of observation. The plants in plot 5 were so much better developed and greener than in the others that the difference was easily noticeable at a distance. Whether this difference was due to the greater supply of plant food or to the tubercles could not be determined directly, though the weight of the evidence leans toward the effect of the manure. It was, however, quite certainly ahown that the artificial inoculation did not result beneficially. The long drought of the succeeding summer killed the greater part of the plants so that the observations could not be extended.

There is at this writing, on the College ground a small plot of hairy vetch growing on soil never before cultivated in legumes. These plants show an abundance of nodules on the roots of plants growing in the part that had received a liveral supply of stable manure, while those in soil receiving none contain few nodules. The former plants are much better developed than the latter. The view that a sufficient development of the tubercle forming bacteria can be obtained by proper manipulation of the soil, chemically and manurially, seems therefore to be correct.

We are aware that these observations are in apparent conflict with results obtained by certain other investigators who have noted that the roots of legumes growing in soils plentifully supplied with nitrates 1), or manured, do not show infection to the same extent as those less abundantly supplied with available nitrogen. These results have, however, in the main, been obtained by the use of artificial cultures of the nodule forming bacteria.

Many observers have noted that plants grown in sterilized soils do not at first make as rapid growth as those in normal soil. They remain backward for several days or even a week or two. However, when growth is once well established, it not infrequently happens that plants in sterilized soils will outstrip those in the normal. This peculiar effect of sterilization, as has been shown by Maercker 2), may be corrected in large measure by the application of lime. In studying this effect of sterilization, Richter 3) concludes that the heat of sterilization causes destruction of the organic substances in the soil with the formation of other bodies which are at first harmful to the plant, but the final result is the unlocking of fixed materials, particularly the nitrogenous matter, and the latter induce the later and more vigorous growth. These conclusions have been confirmed by Maercker 4), who shows further that steam sterilization increases the available mineral substances in the soil, especially phosphoric acid. He believes also, that after the bacterial flora has reappeared in the soil the experiment plants grow better. Hiltner and Stoermer 5) found that after soil had been partially sterilized by carbon bisulphide it becomes very quickly infected with a new bacterial flora, and that these bacteria, after the effects of sterilization have disappeared, flourish far more vigorously than in the normal soil.

Our own work has given ample comfirmation of these conclusions. We believe that the explanation of why plants growing in steam sterilized soil are usually slow in developing is that harmful bodies are at first produced but these are later changed by the renewed bacterial activity in such manner as finally to accelerata growth in experimentar plants.

The familiar "damping off" is far more frequent in steamed soils than in normal. Other kinds of fungi seem to thrive especially well in these soils and quickly cover the surface of the pots. The explanation of this excessive growth of fungi is perhaps the same as that for bacteria.

Discussion and conclusions.

These investigations leave no reasonable doubt that B. radicicola can and usually does remain active for very long periods in soils devoid of leguminous vegetation and even air dry. Furthermore the bacterium

---

1) Nobbe and Hiltner, Versuchsst. Bd. XLII. 1893. p. 477; Hiltner, l. c. Bd. XLVI. 1896. p. 161; Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. III. p. 42 ff., and lit. cited.

2) Maercker, Jahrb. d. agrikulturchem. Versuchsst. Halle 1896. p. 65.

3) Richter, Landw. Versuchsstat. Bd. XLII. 1897. p. 269.

4) Maercker, loc. cit.

5) Hiltner and Stoermer, Studien über die Bakterien des Ackerbodens. Berlin 1903. p. 477 und 478.

diffuses at a very considerable rate through soils that are in proper condition. Just how this diffusion is brought about has not yet been determined. Very likely a large part of the movement is due to currents in the soil water. Its own motility may help in the diffusion which may also be due in part to rapid proliferation.

The work was done under conditions that excluded as far as possible all contamination from outside sources. If it be contended, however, that the soil was really sterile and that the bacteria made their appearance after the former was brought into suitable condition, the reply would be that, if such were the case, all attempts at artificial inoculation are simply time wasted.

We believe that to secure the bacteria in a soil lacking them, if there is any such, one need but ascertain the cause preventing their appearance and remove the disturbing factor. If a soil should be found lacking the organism, it appears wholly illogical to attempt to introduce it artificially without having first brought the soil into conditions favorable to the development of the germ. Just what these conditions are has not yet been ascertained, but the well known difficulty of keeping free from contamination soils that are being used for experimental purposes and that have necessarily undergone more or less of physical and perhaps of chemical change during their preparation, would indicate that if a soil is put into proper condition and infection is not excluded, the tubercle bacteria will make their appearance, just as when a pan of fresh milk is set in the open air, the bacteria of fermentation, in most cases, appear immediately. When they do not, it is because of some obstacle in the milk, and if this is removed, souring takes place.

We have not been concerned especially with the question of the so-called "virility" of B. radicicola, during these experiments, though the many observations of increased activity of the organism under improved physical and chemical conditions, as when legumes grow in manured land, indicate that this increased activity is directly related to these conditions. It is quite possible, however, that an observed increase of fixed nitrogen in a given legume, due to the presence of the tubercle organism, though possibles caused by a high state of "virility", may just as reasonably be attributed to the collective activity of larger numbers of the bacteria having a lower N-fixing power. It has not been shown by any one that the bacteria in which increased N-fixing powers have been observed multiply more rapidly or even at the same rate as the less active races, nor that increased powers of resistance to unfavorable conditions are at all correlated with their enhanced "greed for nitrogen". Moreover it is far from being proven that any one race or "physiologic species" is really more virile than another. Grieg-Smith[1]) has shown that as many as three races are sometimes present in one and the same tubercle. Possibly, therefore, fixation of nitrogen may occur most rapidly only when two or more of these races are growing together. The latter writer has also found that 99,8 percent of the organisms in the nodules examined by him were dead, though not decomposed. The socalled "virility" or increased N-fixing powers of certain races may thus be due to organisms capable of resisting the evidently deleterious effects of the host plant. Grieg-Smith believes that these physiologic races are produced by the influence of the host. Phaseolus multiflorus and some varieties of garden peas do not have many or large nodules, so far as observed by the writer. This may be due to some peculiarity of these plants and if a race of bacteria shall be found capable of overcoming this is might be considered "virile", though its N-fixing powers were very low.

---

[1]) Grieg-Smith, Journ. Soc. Chem. Indust. 1907. No. 7.

The writer is at present studying the effects of manuring and cultivation of various soils on the development of the tubercle organism. Field experiments with inoculated earth are also planned for the present season.

Nachdruck verboten.

The Bacteroids of Bacillus radicicola.

[From the Bacteriological Laboratory of the Ogden Graduate School of Science, University of Chicago.]

By **Robert Earle Buchanan.**

With 9 Figures.

Many species of plants belonging to various groups have been shown in recent years to be materially modified in development and in morphology by the influence of their chemical and physical environment. Those who have attempted an analysis of the factors governing such changes in external form emphasize the most diverse elements. These factors have, in some cases, been grouped together under the comprehensive term of nutritional. In a few instances, notably the work of Livingston (1900, 1901) upon the alga Stigeoclonium, the importance of one factor, osmotic pressure, has been definitely shown. Light, temperature, moisture and a variety of other factors have been proved of importance in other cases. One point of considerable significance that seems definitely established as a result of the work of Goebel, Klebs, Livingston, MacCallum and others, is that the so-called "normal" course or type of development in forms having a more or less complex life history is in no real sense normal, but is rather, merely the usual sequence. Variations in morphological character due to differences in environment are not "abnormal". In other words, the definite sequence of events which is commonly observed in the development of a plant is in part quite certainly attributable to variations in its chemical and physical environment.

The variability of microorganisms, particularly bacteria, when subjected to various culture conditions has been noted by many writers. The development of capsules by some species of bacteria when grown under certain conditions, particularly in the animal body, the production of clubbed threads by Streptothrix in tissues, the variations of B. diphtheriae in morphological and staining characters under different growth conditions, the formation of long and of short chains by the Streptococcus pyogenes, and the considerable variations almost constantly to be observed in the size of bacteria and of their spores taken from different culture media are all evidences of the readiness with which the cell responds to changes in the environment. This tendency toward variation is so marked that it has resulted in the careful definition of standard technique for laboratory procedure, since uniform conditions must furnish the only basis for comparative work along bacteriological lines. Some attention has been given, however, to a systematic study of bacterial variation. The work of Theobald Smith on B. tuberculosis has shown that the character of the cell wall and capsule, as well as the general morphology of the organism, is largely determined by conditions external to the bacterial cell. L. M. Loeb (1902) concluded that an increase in osmotic pressure is the principal factor in bringing about branching in many bacteria. Physiological characters such as virulence, pigment and light production have likewise been shown to be dependent on factors other than the tonic conditions for growth. Probably the most carefully controlled series of experiments on the variations in the morphology of bacteria is that reported by Garbowski (1907). Long filamentous cells as Streptobacilli and shorter forms resembling Streptococci were developed when the organisms with which he worked (B. luteus and B. tumescens) were subjected to different cultural conditions. Great variation was also induced in the size and shape of the spores, and under certain conditions branched forms developed which superficially, at least, resembled the bacteroids of the B. radicicola. Involution forms have also been reported to occur in a considerable number of species, although the factors that induce their production have not been carefully analyzed in most instances. Aside from what has been accomplished with the forms above mentioned, practically the whole field of critical experimental morphology of the bacteria has remained untouched, although exact control of conditions of experimentation would seem to be much easier with these forms than with the higher plants, or even the fungi and the algae with which Klebs (1903) and others have worked.

The present paper deals with the results of an investigation of various factors influencing the morphology of B. radicicola. In view of the well known pleomorphism of this organism in the nodules of various species of legumes, it seemed to be an unusually promising form for experimentation. The conditions that have to do with the development of bacteroids in artificial media have been particularly studied. In addition to the direct bearing of this problem upon general experimental morphology, it was believed that the cultivation of the organisms from the nodules of a number of the legumes under a variety of conditions might throw some light on the problem of the unity or multiplicity of species. The question whether or not it is possible to duplicate the various bacteroid forms to be found in the nodules of various species was also thought to be worthy of investigation. A consideration of the peculiar morphology of the organism and its great variation under different conditions should also throw some light on the much debated systematic position and relationships.

Historical. Ever since the first investigation of the histology of the nodule of the legume, interest has been aroused by the strange and unusual shapes and the very characteristic morphology which this organism assumes under different conditions. The exact nature of these departures from the socalled normal rod type have been much discussed; according to some authors we have to do with involution or degeneration forms, according to others with a normal developmental condition showing the close relationships of these forms to the higher or the branching bacteria and even to the yeasts among the fungi.

The name bacteroid was first applied by Woronin (1866) to certain Y and T shaped granules which he found filling the cells in some tissues of the nodules on leguminous roots. They have been repeatedly noted and figured since that time, but in a rather incidental manner in most cases. Notable exceptions to this are to be found in the papers of Morck (1891) and of Schneider (1893 etc.). The isolation and cultivation of the organism was first announced by Beijerinck (1888), and in later papers (1890, 1891) he refers to the finding of bacteroids in some nutrient solutions. The organism was cultivated by Prazmowski (1890) and Zinsser (1897), but these investigators were unable to discover any trace of bacteroid formation in artificial media, even after a lapse of months. They conclude that bacteroids are not produced outside of the cells of the host. Later investigations, however, have shown beyond question that bacteroids may be produced in suitable media. An exact definition of the conditions favorable for their production has been attempted in several instances. Laurent (1891) found bacteroids with characteristic branching in a decoction of pea leaves. Atkinson (1893) gave an excellent account of the morphological characteristics of the organism in artificial media, and emphasized its extreme pleomorphism. Mazé (1898) found branched and piriform types appearing on solid media after the addition of 1 % tartaric acid. Grieg Smith (1899), using several culture media, demonstrated typical branched bacteroids. Stutzer (1900) gave the first extended account of bacteroid formation in artificial media. He tested the effect of a considerable number of substances, and concluded that various extracts of legumes constitute favorable media when acidified by organic acids. Hiltner (1900) corroborated Stutzer's results in part, but disagreed with the latter's conclusion regarding the specific action of the organic acids. Miss Dawson (1900), using liquid culture media, found bacteroids showing the X and Y forms. Neumann (1902) tested more than sixty solutions and found branching to occur in a considerable number of these. Hiltner and Stoermer (1903) published the results of even more extended observations on bacterioids, and emphasized the carbon source of nutrition as the governing factor. Süchting (1903) concluded that the presence of a film of water on the surface of the cultures was essential to the production of bacteroids. This he attributed to the diminished oxygen pressure that would obtain in the medium immediately surrounding the cells under these conditions. Lutz (1904) found that bacterioids were produced in 5—10 % solutions of various carbohydrates. Moore (1905) subscribes to Süchting's findings. Lewis and Nicholsen (1905) found bacteroids to develop on solid culture media as well as in liquids. Clarke records the same facts. Harrison and Barlow (1907) have described and figured bacteroids from liquid culture media. Finally de Rossi (1907) is convinced that the organisms with which most authors have worked are not the true legume organism at all, and after a brief discussion he disposes of the claims of the various authors mentioned above, concluding that there are no authentic demonstrations of the production of bacteroids in artificial media. By his own methods he succeeds in isolating, however, an organism which may produce bacteroids under the proper conditions. It would seem that de Rossi is wholly unjustified in much of his criticism of former work, for in essentials the organism isolated by him tallies in its cultural and morphological characters with the organisms that have been so frequently described.

Sources of the organisms used. From a stock of over thirty cultures isolated in the laboratory from as many species of legumes, seven were chosen from distantly related hosts. The cultures so selected were from Trifolium pratense, Petalostemon (Kuhnistera) candidus, Lathyrus odoratus, Vicia faba, Vicia villosa, Phaseolus vulgaris and Lupinus arboreus. For controls, cultures were used derived from Medicago sativa and Trifolium pratense and obtained through the courtesy of Profs. C. E. Marshall and Walter G. Sackett of the Michigan Agricultural College, and of Pisum sativum from the Bureau of Plant Industry of the U. S. Department of Agriculture. In the following presentation the results obtained with the organisms from the Vicia faba, Vicia villosa and Lupinus arboreus are not recorded, these types being reserved for further study. The organisms derived from these hosts produced no bacteroids under any conditions. Isolation from a number of plants and a careful comparison of results is necessary before conclusions may be reached with reference to their ability to produce bacteroids in artificial media.

In all, tests were made with some or all of these organisms in about three hundred nutrient solutions. As far as possible these solutions were made and kept under uniform conditions. As a basis for all media where not otherwise indicated, a salt solution was prepared containing .2 % acid potassium phosphate and .01 % of magnesium sulfate. All solutions were prepared in 100 cc. lots in flasks, heated to boiling, cooled on ice, and filtered to remove all insoluble precipitates. The filtrate was then tubed and subjected to intermittent sterilization in flowing steam on each of three successive days. The cultures were examined at the end of two weeks and of five weeks, stained mounts being preserved in all cases. Pyoktanin was used generally in staining. All drawing were made with a camera lucida, with Leitz 1/12 oil immersion objective and 4 ocular.

The results of these observations are grouped according to the composition of the medium used as follows: 1. Salts of the organic acids. 2. Glycerin. 3. Asparagin and sodium asparaginate. 4. Urea. 5. Peptone. 6. Glucosides. 7. Extracts of various legumes. 8. Carbohydrates, alone and in combination with other substances.

For the sake of brevity and clearness the names of the hosts from which the organisms were derived are used to indicate the organisms themselves.

Salts of the organic acids.

1. Ammonium formate. Phaseolus vulgaris only.

1 %. (Fig. 1 A). Very slight multiplication, bacteroids elongated, rarely oval or triangular, no branching. The polar granules and the cell outlines only take the stain. Cells .6—.8 × 1.5—4 μ. Neumann (1902) in a similar solution with the addition of .2 % ammonium phosphate could demonstrate no growth with B. radicicola from Vicia faba.

2 % and 5 %. Little or no growth.

Conclusions. Formic acid as the ammonium salt in dilute solution allows of slight multiplication, the vacuolate cells remaining small and showing no branching.

It should be noted that Neumann (1902) could obtain no growth with salts of acetic acid using the organism from Vicia faba.

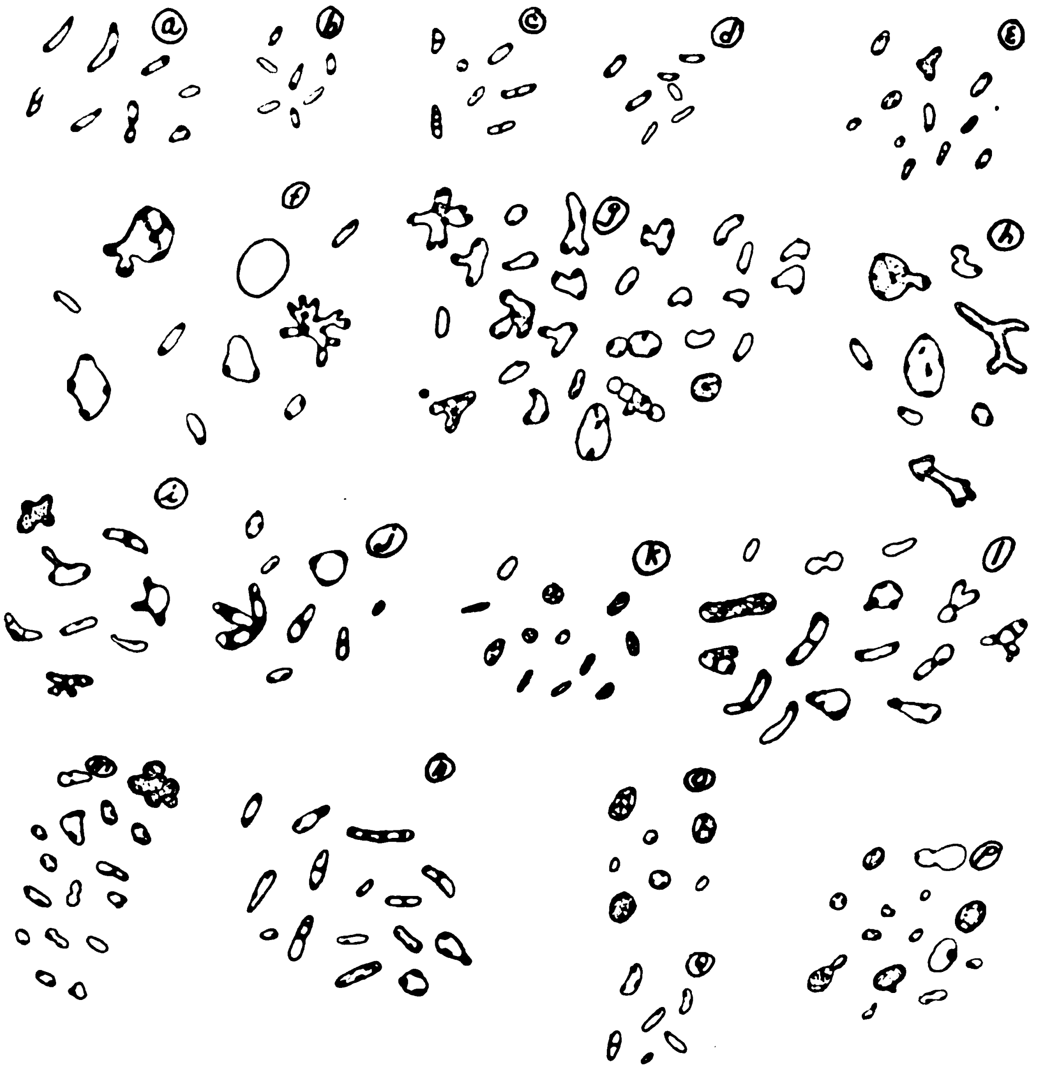


Fig. 1. A Phaseolus vulgaris, 1 % ammonium formate. B D Phaseolus vulgaris in 2 % sodium butyrate. C Phaseolus vulgaris in .5 % potassium butyrate. E Medicago sativa in 2 % sodium succinate. F Medicago sativa in .1 % sodium succinate. G Medicago sativa in 1 % sodium succinate. H Phaseolus vulgaris in .5 % sodium succinate. I and J Lathyrus odoratus in 1 % sodium succinate. K Petalostemon candidus in 1 % sodium succinate. L Petalostemon candidus in 1 % sodium succinate + .5 % ammonium phosphate. M. Medicago sativa in 1 % sodium succinate + .5 % ammonium phosphate. N Phaseolus vulgaris in 1 % ammonium tartrate. O and Q Trifolium pratense in 1 % ammonium citrate. P Petalostemon candidus in 1 % ammonium citrate.

2. Sodium butyrate. Phaseolus vulgaris only.

.5 %. Little or no growth.

2 %. (Fig. 1 B and D). Very little multiplication, a few rods only, staining in outline or with polar granules. Cells .5—.7 × 1.5—2.5 μ.

1 % + 5 % ammonium phosphate. Little or no growth.

3. Potassium butyrate. Phaseolus vulgaris only.

.5 %. (Fig. 1 C). Slight growth. Rods, straight or slighly bent, staining in outline only, with polar granules or with 2—3 stained bands. A few very small spherical forms. Cells .5—.7 × .6—2.5 μ.

1 % and 2 %. Less growth than in the preceding, cells of the same type.

4. Calcium butyrate. Phaseolus vulgaris only.

.5 % and 1 %. No growth.

Neumann (1902) using 1 % calcium butyrate + .2 % ammonium phosphate secured no growth with organisms from Vicia faba.

1 % + .5 % ammonium phosphate. Very slight growth.

Conclusions. The salts of butyric acid permit of very slight growth only in dilute solutions, with the production of granular unbranched bacteroids.

5. Potassium valerianate. Phaseolus vulgaris only.

.5 %. No growth.

1 % and 2 %. A few rods only, resembling those of the 2 % sodium butyrate. No bacteroids produced.

6. Sodium succinate.

.5 %. Phaseolus vulgaris (Fig. 1 H). Luxuriant growth, with an abundant production of bacteroids of a great variety of shapes, small spheres, large rods and branching types. Buds, short branches and asymmetrical cells numerous. The general protoplasm scarcely stains; peripheral and occasional central heavily stained granules present. One of these granules is generally present in the tip of each branch, growth of the cell apparently takes place only at the points where the granules are situated. In some of the larger forms a netted or reticulate cytoplasm may be noted, but the cells are for the most part too small for this to be seen. There is evidently a rapid multiplication of the bacteroids as such by budding, and without the intervention of a "swarming" stage. Cells .6—5 × 1—5 μ.

1 %. Phaseolus vulgaris (Fig. 1 G). Much as in the preceding, but the cells average somewhat larger, and branching is more conspicuous. The reticulate structure of the cytoplasm of the large cells is very evident. Cells .8—3 × 1—6 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 1 I and J). Oval and spherical forms predominate. A few uniformly stained rods, and large vacuolate or granular forms. Cells .5—2 × 1—4 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 1 K). Small uniformly stained rods and slightly larger oval to spherical, reticulate and granular forms. .5—1 × 1—2 μ.

Medicago sativa (Fig. 1 E). Small rods, granular or slightly reticulate with a few short branching forms. Cells .5—1 × 1—2 μ.

Trifolium pratense. Little or no growth.

2 %. Phaseolus vulgaris (Fig. 1 F). Similar to the 1 % solution. Some large spherical and irregularly branched forms 2—4 × 3—5 μ. There are also some smaller rods with polar granules 1 × 2—3 μ.

1 % + .5 % ammonium phosphate.

Phaseolus vulgaris. Very scanty growth.

Lathyrus odoratus. Slight growth, granular rods, and small piriform bacteroids.

Petalostemon candidus (Fig. 1 L). Rods and variously bent and branched bacteroids. Budding is conspicuous. All types may be found from small oval rods to thick, elongate, oval granular and reticulate bacteroids. Cells .6—1 × 1.5—6 μ.

Medicago sativa (Fig. 1 M). Small oval or circular to elongate bacteroids with little indication of branching. Granular. Cells .8—1 × 1—3 μ.

Trifolium pratense. Little or no growth.

Conclusions. Succinic acid in the form of the sodium salt is an excellent nutrient for the majority of the races of B. radicicola studied. Small bacteroids are formed in most cases, though a marked variation is to be noted in this respect among the different types.

7. Calcium lactate. Phaseolus vulgaris.

.5 %, 1 %, 2 %, and 1 % + .5 % ammonium phosphate. Little or no growth.

8. Ammonium tartrate. Phaseolus vulgaris.

1 %. (Fig. 1 N). Growth scanty. Vacuolate or granular bacteroids in the form of rods or pear shaped cells. .8—1.5 × 1.5—4 μ.

9. Sodium citrate.

1 % and 1 % + .5 % ammonium phosphate. No growth.

10. Ammonium citrate.

1 %. Trifolium hybridum (Fig. 1 O and Q). Bacteroids few in number, granular or reticulate, varying from small rods .5 × .8 μ to spherical cells 2 × 3 μ.

Pisum sativum, Lathyrus odoratus, and Medicago sativa. Little or no growth.

Phaseolus vulgaris. A few granular straight rods .5—.8 × 1—2.5 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 1 P). Small oval or spherical bacteroids .5 × .8 μ, a few larger oval and reticulate forms 2.5 × 3 μ.

Conclusions. Citric acid in the form the ammonium salt is a suitable nutrient for most of the races of **B. radicicola** tested, and stimulates the formation of bacteroids under certain conditions.

Summary. Of the salts of the organic acids tested, sodium succinate appears to be the best suited for the nutrition of **B. radicicola.** Differences in the kind of nutrient and in the races of organisms used are the important factors in determining bacteroid formation under these conditions.

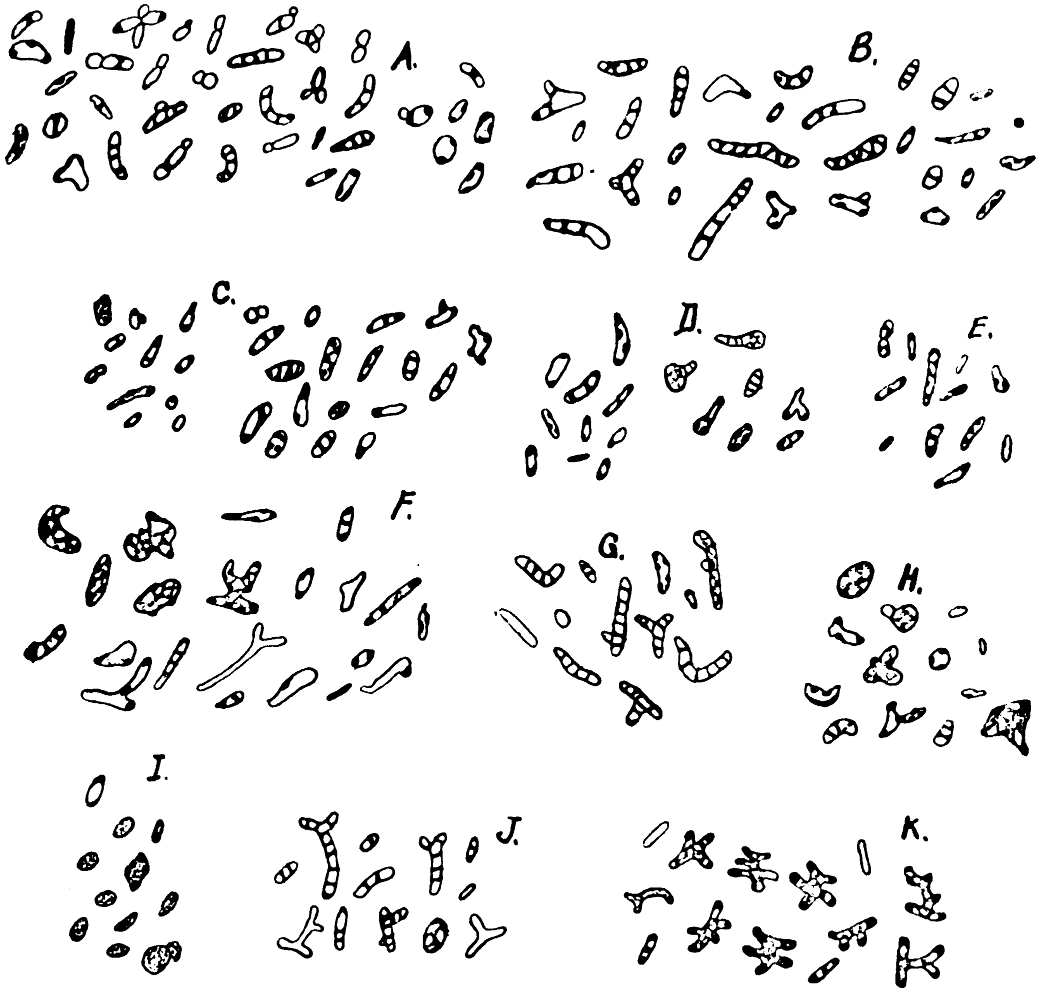


Fig. 2. A **Trifolium pratense** in 1 $^0/_0$ and 3 $^0/_0$ glycerin. B. **Lathyrus odoratus** in 1 $^0/_0$ and 3 $^0/_0$ glycerin. C **Petalostemon candidus** in 1 $^0/_0$ and 3 $^0/_0$ **glycerin** and 1 $^0/_0$ glycerin + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate. D **Phaseolus vulgaris** in 1 $^0/_0$ and 3 $^0/_0$ glycerin and 1 $^0/_0$ glycerin + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate. E **Pisum sativum** in 1 $^0/_0$ and 3 $^0/_0$ glycerin. F and G **Lathyrus odoratus** .3 $^0/_0$ glycerin. H **Medicago sativa** in 1 $^0/_0$ glycerin + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate. I **Pisum sativum** 1 $^0/_0$ glycerin. J and K **Petalostemon candidus** in 5 $^0/_0$ glycerin + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate.

Glycerin.

Glycerin.

1 $^0/_0$. **Medicago sativa.** Little or no growth.

Trifolium pratense (Fig. 2 A). Abundant production of bacteroids. Charac-

teristic long banded rods 1 × 5 μ and smaller. Usually each shows from one to five stained bands. There is considerable evidence of budding but there are no long branches.

Petalostemon candidus (Fig. 2 C). A moderate growth. Bacteroids range form small granular coccus forms .8 μ in diameter to banded reticulate or granular rods. 1.5 × 4 μ. A very slight tendency to the formation of short branches.

Lathyrus odoratus (Fig. 2 B). An abundant production of bacteroids, banded reticulate, or granular rods and spheres. A little evidence of budding and branching. The rod forms are usually long, often with from six to eight bands. In size they vary from small rods .6 × 1 μ to longer forms .6 × 1—7 μ.

Pisum sativum (Fig. 2 E). A scanty growth. Bacteroids granular or banded. .5—1 × 1.5—4 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 2 D). Bacteroids are not numerous, rod shaped, rarely spherical, banded, or more rarely with granular staining, the larger cells reticulate. Some branching. Cells .5—1.5 × 1.5—5 μ.

3 %. With most of the types studied there is no observable difference between the appearance in 1 % and 3 % glycerin. Figures of the former seroe equally well for the latter. The following additional notes alone are necessary.

Lathyrus odoratus (Fig. 2 F and G). In the two week cultures many large irregularly outlined, curved, bent or branched forms showing granules and with marked reticulations. A few branched rods. Cells 2.5—3 × 5—6 μ. In the five weeks culture the larger number are long banded forms, more rarely reticulate or granular rods 1 × 5—6 μ.

5 %. In most of the cultures the growth is slightly scantier than in the 3 % solution, microscopically the appearances are identical.

1 % + .5 % ammonium phosphate. In most cases the morphology is similar to that described for 1 % glycerin. The following additional notes are necessary.

Trifolium pratense, Lathyrus odoratus. Little or no growth.

Medicago sativa (Fig. 2 H). Not numerous. The cells vary from small granular rods .6 × 1—1.5 μ to larger spherical or oval cells with marked granulation and reticulation of the protoplasm. Some budding. Large cells 1.5—3 × 3—5 μ.

Pisum sativum (Fig. 2 I). A considerable number of oval and elongate uniformly stained rods, rarely slightly granular. .5—2 × 1.5—3 μ.

Phaseolus vulgaris. A few rodshaped and reticulate spherical bacteroids.

5 % + .5 % ammonium phosphate. With the exception of the types noted below, cultures in this medium were identical with those of the preceding.

Petalostemon candidus (Fig. 2 J and K). The culture at the end of two weeks shows a very large number of strikingly branched bacteroids, many granular and reticulate. Five to seven branches are frequently to be observed on a single organism. Branches and rods are all relatively narrow. .5—.8 × 2—3 μ. Granules are generally present in the growing tips. In the five weeks culture there are fewer branching forms; long banded rods .8 × 1—8 μ are very characteristic.

Neumann (1902), working with B. radicicola from the nodules of the V. faba found that little or no branching occurred in 1 % glycerin. The addition of asparagin he found to greatly increase the production of bacteroids. Various salts in combination with glycerin were also tested, but were never found to have any specific effect on the development of bacteroids other than an antiseptic action which was sometimes manifest.

Conclusions. Glycerin will support a luxuriant growth of B. radicicola, and a considerable number of types of bacteroids are to be found. There appears to be a slight effect of concentration of the medium on the morphology of the organisms, inasmuch as the stronger solutions usually gave the larger number of branched forms. The source of the organism appears to be a much more important factor, however.

Asparagin and sodium asparaginate.

Asparagin.

1 %. Trifolium pratense (Fig. 3 A). Uniformly stained rods, not numerous. Cells .6 × 1—4 μ.

Medicago sativa (Fig. 3 B). Oval rods, uniformly stained. .7 × 1.5—2 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 3 B). Uniformly but faintly staining rods, rarely a few granular cells. .6 × 1—2 μ.

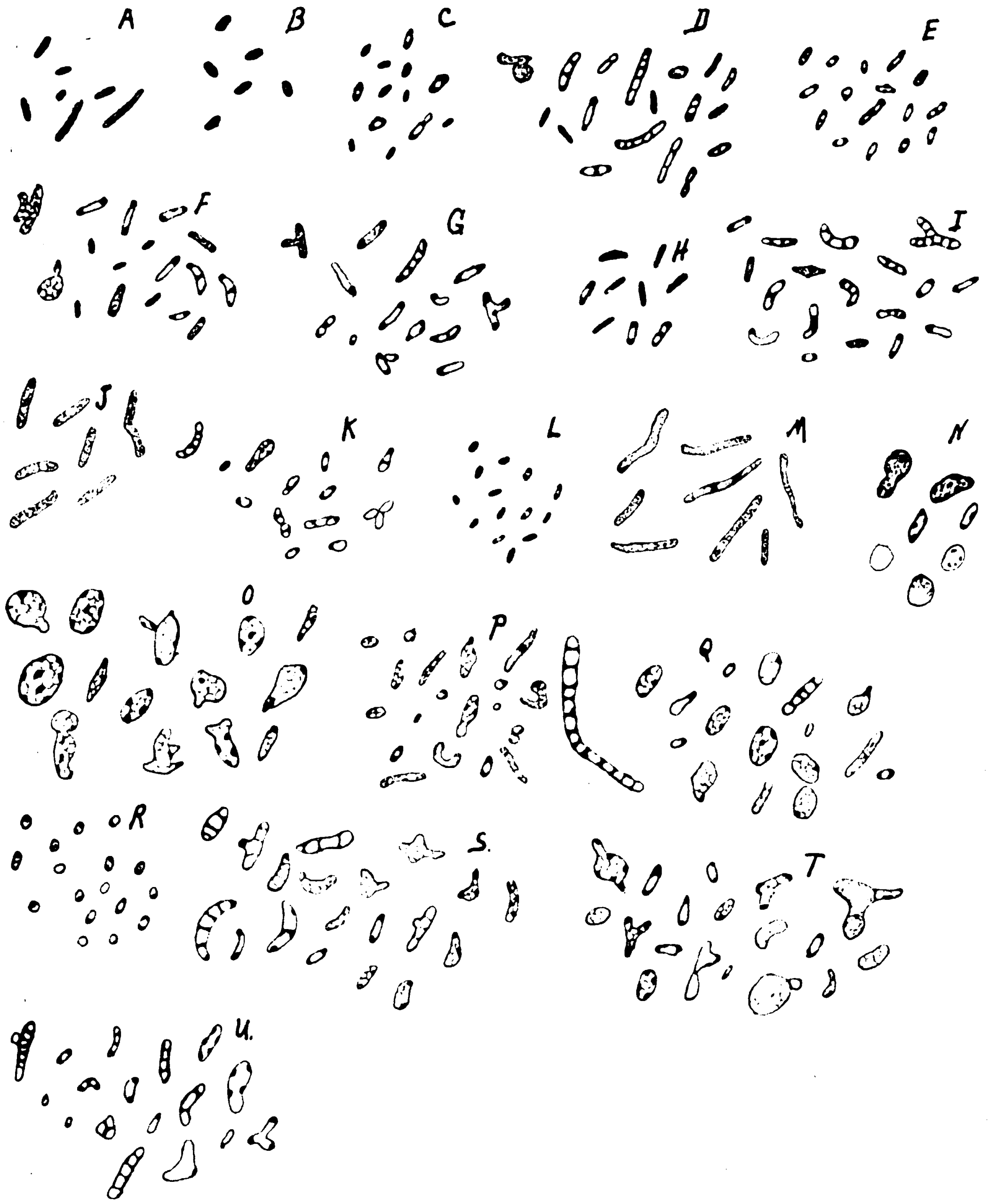


Fig. 3. Trifolium pratense and Pisum sativum in 1 % asparagin. B Medicago sativa and Petalostemon candidus in 1 % asparagin. C Petalostemon candidus in 1 % sodium asparaginate. D Trifolium pratense in 2 % amygdalin. E and F Petalostemon candidus in 2 % amygdalin. G Lathyrus odoratus in 2 % amygdalin. H Pisum sativum in 2 % amygdalin. I Phaseolus vulgaris in 2 % amygdalin. J Trifolium pratense in 2 % amygdalin + .5 % ammonium phosphate. K Medicago sativa in 2 % amygdalin and .5 % ammonium phosphate. L Petalostemon candidus in 2 % amygdalin + .5 % ammonium phosphate. M Pisum sativum in 2 % amygdalin + .5 % ammonium phosphate. N and O Phaseolus vulgaris in 2 % amygdalin and .5 % ammonium phosphate. P Trifolium pratense in 2 % salicin. Q Medicago sativa in 2 % salicin. R Lathyrus odoratus in 2 % salicin. S Pisum sativum in 2 % salicin. T Medicago sativa in 2 % salicin + .5 % ammonium phosphate.

Lathyrus odoratus. A very scanty growth, for the most part of uniformly stained rods.

Pisum sativum. A very few uniform rods, as in T. pratense.

Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

1 $^0/_0$ + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate. Very scanty or no growth in any case. There is no formation of typical bacteroids.

Hiltner (1903) used solutions of .01, .1 and 1 $^0/_0$ asparagin in tap water for the cultivation of B. radicicola from the soy bean and the clover. With the former he found abundant bacteroid formation in the .1 $^0/_0$ solution, often branching with excrescences, and large vacuoles. In the clover reticulate and vacuolate rods appeared. The difference of the composition of the basis of the medium may account for the discrepancy between the results reported here and those of Hiltner.

Sodium asparaginate.

1 $^0/_0$ and 1 $^0/_0$ + .5$_0/_0$ sodium asparaginate. Little or no growth.

Conclusions. Asparagin and sodium asparaginate, while permitting slight growth of the organisms in some dilutions, do not seem to offer suitable conditions for the development of the bacteroids. The cells, in most cases where the development occurs, are small, uniformly stained rods.

Glucosides.

Amygdalin.

2 $^0/_0$. Trifolium pratense (Fig 3D). Numerous bacteroids and a few non-vacuolate rods. The former are not branched, they are straight or bent, usually, banded, rarely granular. Rods .5 × 1.5—2 μ. Bacteroids .5—.8 × 2—5 μ.

Medicago sativa. Little or no growth.

Petalostemon candidus (Fig. 3E and F). Bacteroids uniformly small, granular, rarely banded. Spherical forms .8 μ in diameter to rods .5—.8 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 3G). Bacteroids varying from cocci .6 μ in diameter to rods .6—.8 × 1—4 μ. Smaller forms with heavy polar granules, the larger forms banded. Some branching.

Pisum sativum (Fig. 3H). Uniform rods, a few with banded or polar staining.

Phaseolus vulgaris (Fig. 3I). For the most part banded bacteroids, rarely branched. A few granular, or with heavy polar granules. A considerable proportion of curved forms. .6—.9 × 1—4 μ.

2 $^0/_0$ + .5 $^0/_0$ ammonium phosphate.

Trifolium pratense (Fig. 3J). Lightly but uniformly stained, large rods. .8 × 4—6 μ.

Medicago sativa (Fig. 3K). Bacteroids oval to elongate, banded or granular. .6—.8 × 1—4 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 3L). Very numerous minute rods, uniformly stained, or with polar granules. .3—.4 × 1—1.5 μ.

Lathyrus odoratus. Little or no growth.

Pisum sativum (Fig. 3M). A few elongate rods, for the most part uniformly stained. .6—.8 × 3—8 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 3N and O). This culture was made in a 100 c. c. flask filled with medium, and not in a test tube as the remainder. The stain was prepared from the film at the bottom of the flask. Practically all of the cells are very large, showing very pronounced granulation and very evident foamy or reticulate structure of the protoplasm. In many cases there is evidence of budding and of branching. In size and shape they vary from ovals 3 × 4 μ to rods 1 × 4 μ.

Salicin.

2 $^0/_0$. Trifolium pratense (Fig. 3P). The culture at the end of two weeks showed many small, spherical forms, granular, .8 μ in diameter, and larger bacteroids, straight or curved, .8—1 × 3—6 μ. The latter are granular or reticulate. At the end of five weeks there are some very much elongated bacteroids showing branching; the majority of the forms, however, are large oval cells showing granules and reticulate protoplasm.

Medicago sativa and Petalostemon candidus (Fig. 3Q). Very numerous small spherical to oval bacteroids, each with one or two granules. .8 × .8—1 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 3R). Numerous irregular and curved reticulate or banded bacteria, usually about. 1.5 × 4—7 μ.

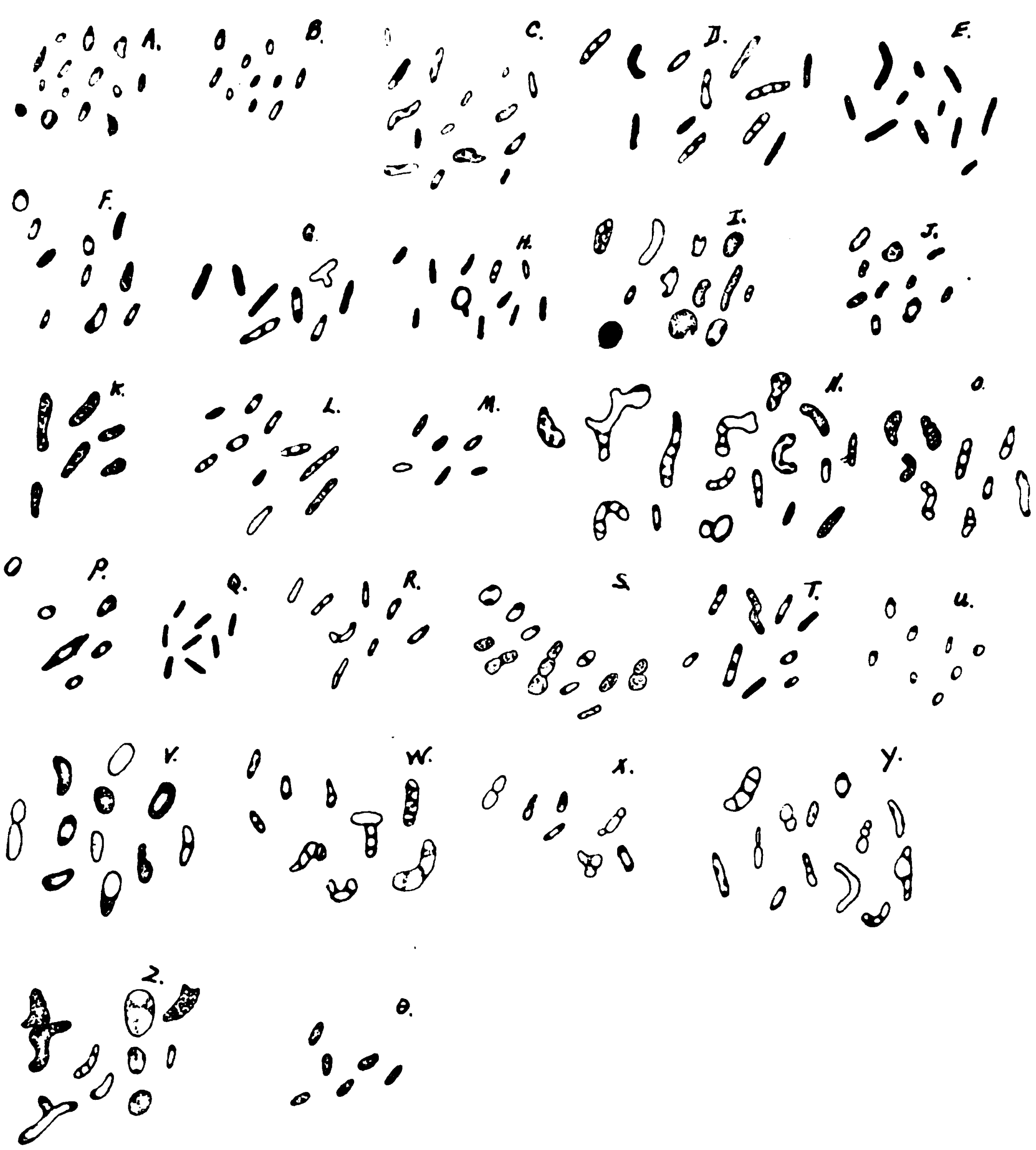


Fig. 4. **Petalostemon candidus** in 1 % peptone and 1 % asparagin. B **Lathyrus odoratus** in 1 % peptone + 1 % asparagin. C **Trifolium pratense** in clover extract. D **Medicago sativa** in clover extract. E **Lathyrus odoratus, Petalostemon candidus, Pisum sativum** in clover extract + salts. F **Phaseolus vulgaris** in clover extract + salts. G **Pisum sativum**. Clover extract + 1 % sodium asparaginate. H and I **Lathyrus odoratus**. Clover extract + 1 % sodium asparaginate. J **Phaseolus vulgaris** in clover extract + 1 % sodium asparaginate. K **Phaseolus vulgaris** in clover extract + .1 % peptone. L **Trifolium pratense** in .2 % aqueous vetch extract. M **Medicago sativa** in .01 % vetch extract, aqueous. N **Phaseolus vulgaris** in .01 % aqueous vetch extract. O **Lathyrus odoratus** in .01 % aqueous vetch extract. P **Trifolium pratense** in 1 % aqueous vetch extract. Q **Trifolium pratense** in .1 % alcoholic vetch extract. R **Lathyrus odoratus** in .1 % alcoholic vetch extract. S **Medicago sativa** in .2 % aqueous vetch extract. T **Petalostemon candidus** in .1 % alcoholic vetch extract. U **Phaseolus vulgaris** in .1 % Tolu. V **Phaseolus vulgaris** in 1 % Tolu. W **Pisum sativum** in 5 % Tolu. X **Trifolium pratense** in 10 % Tolu. Y **Lathyrus odoratus** in 10 % Tolu. Z **Phaseolus vulgaris** in 10 % Tolu. θ **Petalostemon candidus** in 10 % Tolu.

Pisum sativum (Fig. 3S). Numerous irregular bacteria, usually granular; some budding evident in the spherical forms 3—5 μ in diameter. These are distinctly reticulate.

2 % + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Medicago sativa (Fig. 3T). Numerous granular and banded bacteroids, some minute rods and ovals .8 × 1 μ. Larger rods .8—1 × 2—4 μ.

Petalostemon candidus. Small granular ovals. .5—.8 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus. Rather few oval granular forms 1 × 1.5 μ.

Conclusion. The glucosides amygdalin and salicin constitute for most races a favorable medium for the development of bacteroids. This is influenced in a very irregular manner by the addition of ammonium phosphate, in some cases its presence is a distinct advantage.

Peptones.

Nutrose.

.1 %, .5 %, 1 %, 2 %, and 5 %. Little or no growth in any of the tubes.

1 % + .5 % ammonium phosphate, 1 % + .5 % ammonium tartrate, and 1 % + 1 % asparagin. Little or no growth.

Witte's Peptone.

1 % and 1 % + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense, Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

1 % + 1 % asparagin, 1 % + 1 % sodium asparaginate.

Petalostemon candidus (Fig. 4A). Numerous spherical or oval or irregular forms, granular for the most part. Spherical types, .4 μ in diameter; rods .3—.5 × 1—2 μ.

Trifolium pratense, Medicago sativa, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

1 % + .1 %, .5 %, and 1 % KNO_3. Little or no growth with any organism.

Conclusions. Peptones have a decided inhibitory influence on the growth of B. radicicola, or at least do not furnish suitable nutrients for growth.

Neumann (1902) secured a good growth of branching forms in beef bouillon, also in bouillon containing .3 % KNO_3. Hiltner (1903) failed to secure bacteroids with bacteria from the soy bean and V. sativa in peptone solutions.

Clover and vetch extracts.

Clover extract. Two hundred grams of the dried stem and leaves of Trifolium pratense were extracted in four liters of boiling tap water, and the solution filtered until clear.

Clover extract alone.

Trifolium pratense (Fig. 4C). Numerous tiny rods, and a few larger forms. Some are uniformly stained, and some granular.

Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum, and Phaseolus vulgaris (Fig. 4D). Much as in Trifolium pratense, but with a larger number of banded forms.

Clover extract + .2 % K_2HPO_4 + .01 % $MgSO_4$. No essential difference in the growth of any culture from the preceding.

Clover extract + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense. Numerous, faintly stained, and with distinct metachromatic granules. .5—.8 × 4—6 μ.

Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum, Phaseolus vulgaris. Numerous rods, heavily stained, .3—.5 × 1.5—3 μ.

Clover extract + 1% asparagin.

Petalostemon candidus. Numerous rods, uniformly stained. .5 × 1—5 μ.

Lathyrus odoratus. Numerous, minute rods, with polar granules, .5 × 1 μ. Many larger forms, oval and irregular in outline. Many show reticulation and granulation. 1—2.5 × 2—4 μ.

Phaseolus vulgaris, Trifolium pratense, Medicago sativa. Little or no growth.

Clover extract + 1% sodium asparaginate.

Trifolium pratense, Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Medicago sativa. Little or no growth.

Petalostemon candidus. Numerous small uniform rods. .4 × 1—2 μ.

Lathyrus odoradus (Fig. 4J). Much as in Petalostemon candidus, but with some polar and banded forms.

Pisum sativum (Fig. 4G). Numerous rods, .5 × 2—4 μ.

Clover extract + .1%, .5%, 1%, 2% and 5% peptone.

Trifolium pratense. Rods, no bacteroids. Growth only in the dilute solutions.

Medicago sativa, Lathyrus odoratus and Pisum sativum. Numerous small rods, uniformly stained. Growth only in dilute solutions. .5 × 1—2 μ.

Petalostemon candidus. A few short rods or ovals in the dilute solutions, no growth in the more concentrated. .8 × 1 μ.

Extract of vetch. Two hundred grams of dry stems and leaves of V. faba were boiled in two liters of water and filtered. This extract was concentrated to one sixth of its original volume by boiling, and several times its volume of alcohol added. The precipitate was filtered out, washed in absolute alcohol and dried. The filtrate was evaporated to dryness. Each of these extracts was dissolved in 100 c. c. of distilled water, and the insoluble residues filtered out. The first of these is called the aqueous, the second the alcoholic extract of the vetch. To flasks containing 100 c. c. of distilled water varying amounts of this solution were added and tubed.

.01% aqueous.

Trifolium pratense, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris (Fig. 4M and N). Numerous rods, uniformly stained. .4—.5 × 1 μ.

Medicago sativa. Little or no growth.

.1% aqueous.

Petalostemon candidus, Medicago sativa. As in the .01%.

Trifolium pratense (Fig. 4P). A very few rods and irregular froms.

Lathyrus odoratus. Numerous bacteroids, large rods lightly stained, some with polar granules, others very heavily banded, others consisting of chains of lightly stained spheres. Some irregular. .5—.6 × 1—4 μ.

Phaseolus vulgaris, Pisum sativum. Numerous bacteroids, some branched, For the most part rods or oval forms showing considerable vacuolization and reticulation. From rods .5 × 2 μ to forms 1.5 × 4 μ.

.2% aqueous.

Trifolium pratense (Fig. 4L). Numerous rods and bacteroids. .8—1 × 2—10 μ.

Medicago sativa. Numerous spherical, oval and elongated forms, for the most part uniformly stained, a few granular or banded. 1 × 1—5 μ.

Petalostemon candidus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. As in .01%.

1% aqueous.

Trifolium pratense. Many oval and elongated cells, polar granules, in some cases granules distributed through the cell. 1 × 1—5 μ.

Medicago sativa. Small oval and spherical granular forms. .5—.8 × .6—1 μ.

Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum. As in .2%.

Phaseolus vulgaris. Numerous rods, polar staining, banded. .4—.9 × 1—3 μ.

.1% alcoholic.

Trifolium pratense, Lathyrus odoratus, Pisum sativum, Medicago sativa, Petalostemon candidus (Fig. 4T). Numerous small rods, uniform, or with a few polar granules .3—.5 × 1—2 μ.

Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

.5% alcoholic.

Trifolium pratense, Medicago sativa, Lathyrus odoratus and Pisum sativum. As in the .1%.

Petalostemon candidus and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

1% alcoholic. As in the .2%.
2% alcoholic. As in the .2%.
5% alcoholic. Little or no growth in any case.

Conclusions. Clover extract does not constitute a favorable medium for the development of bacteroids, either unmodified or upon the addition of asparagin or peptone. The organisms occur only as uniformly stained rods in most cases. The aqueous and alcoholic extracts of the vetch serve as suitable nutrients for the growth of B. radicicola when they are of the proper concentration. There is very little evidence of bacteroid production. It is evident that there is present in these solutions no substance which has any specific determinative influence on bacteroid formation.

Several investigators have noted the morphological characters of B. radicicola when grown in solutions similar to the above. Stutzer (1900) used extracts of the seeds of various legumes. With the pea seed extract he found that branched forms occurred in the 1% solutions, and that they were fewer in the more dilute solutions. Various substances as citric acid, potassium carbonate, potassium phosphate and nitrate, magnesia, etc. were without any appreciable effect. The size of the rods as recorded is .8 × 1.5—2.5 μ, the bacteroids .8 × 2.5—4 μ. Bacteroids also developed on pea agar. Extracts of the seeds of the clover and of the lupine were also used, and the organisms from the roots of these plants and from several other hosts were grown in them. Bacteroids were found under a considerable variety of conditions; no figures are given, however. He found that the races of B. radicicola from those hosts in which little branching occurs exhibit the same character on artificial media. Laurent (1891) grew bacteria from the pea in pea leaf broth. He found Y and T forms, although they were smaller than those of the nodules. Neumann (1902) studied the production of bacteroids in Vicia faba extract and tested the effect of lupinin and vicin isolated from legumes. In many cases he finds that bacteroids and branching forms are produced. Miss Dawson (1900) used pea bouillon made from stems and secured many X and Y types of bacteroids.

Neumann (1902) also prepared alcoholic and aqueous extracts of the roots and tops of the Vicia faba and inoculated various dilutions of these materials with organisms from the same host. In three days these showed good branching. Some short rods similar to those found in the young nodule were also present. In a few days the branched forms changed to thin rodlets. Hiltner and Stoermer (1903) soaked peas in a minimum of water and used this extract as a nutrient medium. With organisms from the V. villosa there was a quick production of bacteroids, with those from the pea they found bacteroids of a very variable form, many greatly vacuolated. The organisms from the Robinia were not affected as were those from the other hosts. They concludes that there is present in the seed coats of the larger seeded legumes a substance which is detrimental to the growth of the bacteria. Upon this basis they explains the failures which often attend the practical inoculation of the large seeds of some of the leguminous forage plants.

Fluid extracts of legumes.

These were purchased from Parke, Davis and Co. of Detroit, Mich., as standard fluid extracts of legumes. Before using, they were

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

boiled until the alcohol present had evaporated, the quantity again made up to 100 c. c. by distilled water and the portions insoluble in water filtered out. Various amounts of these solutions were then added to the standard salt solutions.

Tolu.

10%. Trifolium pratense (Fig. 4X). Rather scanty growth. Bacteroids spherical or elongated, with polar granules or banded. 1 × 1—2 μ.

Medicago sativa, Petalostemon candidus, Pisum sativum. Bacteroids oval, uniformly stained or slightly granular. 1 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 4Y). Numerous vacuolate, banded and granular bacteroids. Some are irregular. .8—1 × 1—5 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 4Z). Growth not very abundant. Bacteroids irregular, faintly but uniformly stained, sometimes with some indication of vacuolization or reticulation. In shape, straight or bent rods, and large ovals and spheres. .5—.8 × 1—5 μ.

5%. Trifolium pratense, Medicago sativa, Petolastemon candidus, Lathyrus odoratus and Pisum sativum (Fig. 4W). As in the 10%.

Phaseolus vulgaris. Much as in the 10%, but showing more definite granules and banded types.

2%. In all cases as in the 5%.

1%. Trifolium pratense. Numerous oval and elongated bacteroids. For the most part uniformly stained, but in some cases with a single central vacuole. Cells 1—1.5 × 2—3 μ.

The remainder as in the 5%.

.1% Phaseolus vulgaris (Fig 4U). Small spherical and oval cells containing a single granule for the most part. .5 × .5—.8 μ.

The remainder as in the 1%.

Catechu.

10%, 5%, 2%, 1%, and .1%. Little or no growth with any organism.

Physostigma.

10%. Little or no growth with any organism.

2%, 1% and .1%.

Trifolium pratense, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum. Little or no growth.

Medicago sativa, Phaseolus vulgaris (Fig. 5A and B). Numerous uniformly stained rods .5 × 1—2 μ.

Red clover blossom.

2%, 1%, and .01%.

Trifolium pratense (Fig. 5D). Many uniformly stained rods, .5—.7 × 1—4 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 5D). Rods and a few larger vacuolate forms. .3—.5 × 1—4 μ.

Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Rods uniformly stained or with slight banding or vacuolization. .4—.6 × 2—4 μ.

Glycyrrhiza.

10%, and 5% No growth.

2% and 1%.

Trifolium pratense and Medicago sativa. Rods, with polar or slight banded staining. .6 × 1—3 μ.

Petalostemon candidus, Pisum sativum, Lathyrus odoratus, and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

.1%. Phaseolus vulgaris (Fig. 5E). Numerous oval and irregular forms, faintly stained, showing some evidence of branching and of budding. .6—1 × .6—2 μ. The remainder as in the 1%.

Kino.

10%, 5%, 2%, and 1%. Little or no growth.

.1%. Trifolium pratense. Rods, straight or bent, lightly but uniformly stained. .7—1 × 2—4 μ.

Medicago sativa and Pisum sativum. Granular and vacuolate rods, some rather irregular. .8—1 × 1—4 μ.

Petalostemon candidus, Phaseolus vulgaris and Lathyrus odoratus. Little or no growth.

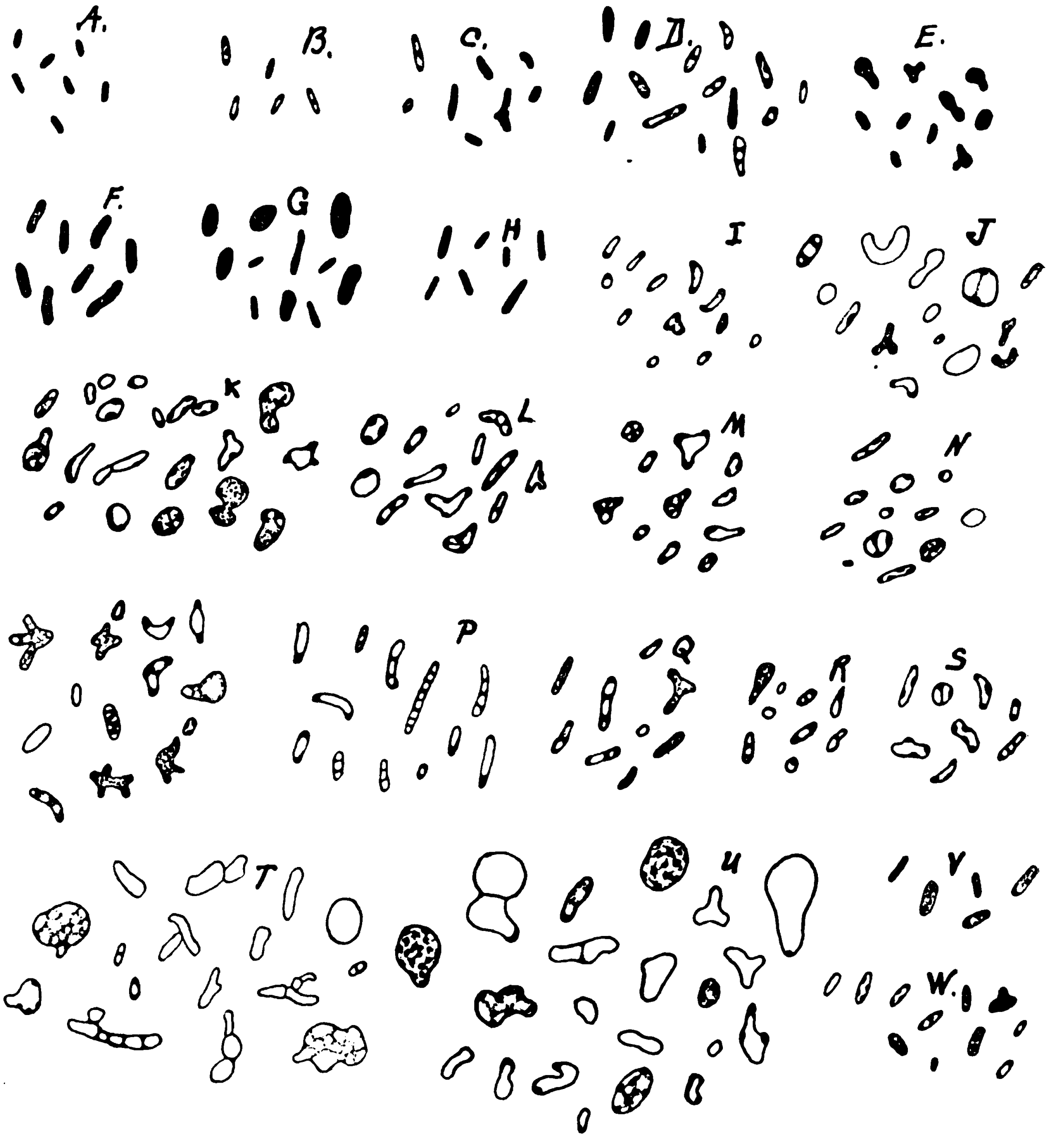


Fig. 5. Phaseolus vulgaris in .1% Physostigma. B Medicago sativa in .2% Physostigma. C Medicago sativa and Lathyrus odoratus in 1% Physostigma. D Trifolium pratense and Petalostemon candidus in 2% red clover blossoms. E Phaseolus vulgaris in .1% Glycyrrhiza. F Medicago sativa in 1% Baptisia. G Phaseolus vulgaris in 2% Senna. H Lathyrus odoratus, Trifolium pratense Petalostemon candidus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris in 2% Senna. I Petalostemon candidus in 2% arabinose and .5% ammonium phosphate. J Medicago sativa in 2% arabinose +.5% ammonium phosphate. K Trifolium pratense in 2% rhamnose. L Lathyrus odoratus in 2% rhamnose. M Petalostemon candidus in 2% rhamnose. N Phaseolus vulgaris in 2% rhamnose. O Petalostemon candidus in 2% rhamnose +.5% ammonium phosphate. P Medicago sativa in 2% rhamnose +.5% ammonium phosphate. Q Phaseolus vulgaris in 2% dextrose. R Lathyrus odoratus in 2% dextrose. S Petalostemon candidus in 2% dextrose + .5% ammonium phosphate. T Medicago sativa in 2% dextrose + .5% ammonium phosphate. U Phaseolus vulgaris in 2% dextrose + 1% nutrose. V Medicago sativa in 2% dextrose in clover extract. W. Petalostemon candidus in 2% dextrose in clover extract.

Baptisia.

10°/o, 5°/o, 2°/o, and .1°/o. Growth is more abundant in most cases in the more concentrated solutions.

Pisum sativum, Petalostemon candidus, Phaseolus vulgaris and Lathyrus odoratus. Numerous small rods .3—.5 × 2—4 μ.

Medicago sativa (Fig. 5F). Numerous rods. .8 × 3 μ.

Senna.

10°/o and 5°/o. Little or no growth.

2°/o and .1°/o. Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum (Fig. 4H). Numerous minute rods. .3—.4 × 1—2 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 5G). Numerous rods and larger oval forms lightly but uniformly stained. .3—1.5 × 1—4 μ.

Scoparius.

10°/o, 5°/o, 2°/o, 1°/o, and .1°/o. Little or no growth in any case.

Conclusions. Some of the fluid extracts tested exhibited a decided antiseptic action upon the growth and development of B. radicicola. Others favor the development and the production of bacteroids, but there does not appear to be any specific substances which determine bacteroid morphology.

Carbohydrates.

Arabinose.

2%. Trifolium pratense. A few oval cells, uniformly stained. .1—1.5 × 1.5—3 μ.

Medicago sativa. Few. Oval or spherical, lightly stained, with granules. 1—1.5 × 1.5—3 μ.

Petalostemon candidus and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Lathyrus odoratus. A few banded and polar staining rods. .8 × 1—3 μ.

Pisum sativum. A few as in Lathyrus, more uniformly stained.

2°/o + .5°/o ammonium phosphate.

Medicago sativa (Fig. 5J). Numerous oval and irregular bacteroids. Some branching. Cells vary from small spheres .8 μ in diameter to spheres 2 μ in diameter and rods .8 × 2.5 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 5I). Numerous polar stained rods, a few irregular. .8 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Conclusions. Arabinose is a suitable medium for the production of bacteroids by certain races of B. radicicola, for others it does not seem suitable. The addition of ammonium phosphate in a few cases increases the production of bacteroids.

Hiltner (1903) found arabinose to favor the production of bacteroids by some forms; in some cases he found definite vacuolization and branching. With the organism from the pea there was almost no growth. Neumann in a solution of 1 % arabinose + .2 % ammonium phosphate found rods but no branching when the organism from the V. faba were used.

Rhamnose (Isodulcite).

2°/o. Trifolium pratense (Fig. 5K). Numerus bacteroids. Ovals, longer types and some branching. All are granular and some vacuolate. The granules are confined largely to the growing points of the cell. Budding is evident. Cells .7—1.5 × 1—3 μ.

Medicago sativa. Very much as in the preceding, but the average a little smaller.

Petalostemon candidus (Fig. 5M). Minute cocci .3 μ in diameter to granular oval types .6 × 1 μ. Very numerous.

Lathyrus odoratus (Fig. 5L). Few uniformly stained rods.

Phaseolus vulgaris. Numerous bacteroids, small granular rods for the most part. .8—1 × 1—2.5 μ.

2% + .5% ammonium phosphate.

Trifolium pratense. A few oval and rod shaped bacteroids, granular. 1 × 1—1.5 μ.

Medicago sativa (Fig. 5 P). Numerous bacteroids showing granules, polar or banded staining. .5—.7 × 1—5 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 5 O). Numerous irregular bacteroids, some branching. Granular and reticulate forms prevail. From spheres. .7 μ in diameter, to cells 2 × 5 μ.

Lathyrus odoratus. Little or no growth.

Pisum sativum. Uniform rods. .4 × 1—2 μ.

Phaseolus vulgaris. A very few rods, lightly stained, with polar granules. .5 × 2 μ.

Conclusion. Rhamnose either with or without the addition of ammonium phosphate is a suitable medium for the development of bacteroids from the organisms of a variety of hosts.

Dextrose.

2%. Trifolium pratense. Numerous rod shaped and irregular bacteroids, for the most part granular. .5 × 1—3 μ.

Medicago sativa. A very few small granular rods. .5 × 1—1.5 μ.

Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris (Fig. 5 Q and R). Vacuolate and granular rods, not numerous. Spheres .7 μ in diameter, rods 1 × 3 μ.

2% + .5% ammonium phosphate.

Trifolium pratense. A few minute, granular, oval and spherical forms.

Medicago sativa (Fig. 5 T). Numerous bacteroids, varying from rods, vacuolate or banded .6—1 × 1—5 μ, to large yeast like cells showing reticulation and granules distinctly, 4—5 × 4—6 μ. Budding very evident.

Petalostemon candidus (Fig. 5 S). Granular rods and bacteroids. .5—1 × 1—3 μ.

Conclusions. Dextrose either with or without ammonium phosphate constitutes a favorable medium for the production of bacteroids.

Hiltner (1900) used a medium containing 1000 c. c. tap water, .55 g acid potassium phosphate, 12.5 g dextrose, and 3 g asparagin. In this medium the organisms from Pisum sativum formed very large reticulate bacteroids of considerable size. The organisms from T. repens produced round bacteroids that appeared to multiply by budding. The addition of KNO_3 stimulated the production of bacteroids from the pea, the cells becoming very large and reticulate. He concludes that the nitrates are used up before the bacteroid formation begins. Asparagin also favors bacteroid production, although this stimulation is manifested only after the asparagin has been used up. Stutzer (1901) inoculated B. radicicola into a dextrose solution and found that branched forms developed in twenty four hours. Neumann (1902) tested solutions of dextrose to which were added various salts and found that branching occurred in many cases. Hiltner and Stoermer (1903) tested a number of types of legume organisms in solutions containing dextrose. In a 1% solution of dextrose in tap water they found that all of the fifteen races used produced bacteroids. The protoplasm was differentiated into a portion that was deeply stained by carbol fuchsin, and a portion that stained only faintly. The portion which stained heavily showed a marked tendency to bud out. They differentiated two distinct types of legume bacteria through their reaction to dextrose in the production of bacteroids, and concluded that a dilution of .1—1% was most favorable for their production. The addition of phosphates has no influence, the carbon source determines the formation of the bacteroids.

2% + clover extract.

Trifolium pratense. Granular rods. 1 × 1—2 μ.

Medicago sativa (Fig. 5 V). Numerous uniformly stained rods. .3—.6 × 1.5—3 μ.

Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris (Fig. 5 W). Numerous minute rods, uniformly stained. .3 × 1 μ.

Conclusions. Bacteroids are not produced as readily in the presence of clover extract as in dextrose solution alone.

2 % + 1 % peptone.

Petalostemon candidus. Numerous granular rods, from .3 × 1 μ to 1 × 2 μ.

Lathyrus odoratus, Phaseolus vulgaris, Medicago sativa, Trifolium pratense and Pisum sativum. Little or no growth.

Conclusions. Peptone 1 % in dextrose solution has a distinct inhibitory effect upon the growth and on the production of bacteroids by the B. radicicola.

Hiltner (1903) found bacteroid production in 1 % dextrose solution with .01 % and .1 % solutions of peptone, but with 1 % secured no growth. He concludes that there is no differentiation of the plasm and formation of characteristic bacteroids until the nitrogen of the peptone has been exhausted. Stutzer (1901) used a 1 % pea seed infusion and added varying amounts of dextrose from 1—10 %. Multiplication is very rapid, and many branched forms are produced, particularly in the 1 %. Smith (1899) found that short bipolar staining forms predominated in the dextrose bouillon that he used.

Mannose.

2 %. Trifolium pratense (Fig. 6 C). Bacteroids rod shaped, oval or irregular, in part branched. Larger forms distinctly granular and reticulate. Spheres .4 μ in diameter.

Medicago sativa, Petalostemon candidus and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Lathyrus odoratus (Fig. 6 D). Bacteroids numerous, from uniform rods, .4 × 3 μ to spheres 2.5 μ in diameter. Larger forms distinctly reticulate and vacuolate.

Pisum sativum (Fig. 6 A). Bacteroids numerous, many small uniform rods. .3 × 1 μ and large granular, reticulate and banded types 1—3 × 1—4 μ.

2 % + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense. A very few rods, oval, with polar granules 1 × 1—2 μ.

Medicago sativa (Fig. 6 F). Numerous bacteroids, rods, straight and bent, granular and vacuolate and reticulate swollen forms, some evidence of budding. Rods .3 × 1 to 2.5 × 6 μ.

Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Conclusions. Mannose is a suitable nutrient, both with and without the addition of ammonium phosphate, for the production of bacteroids by certain races.

Galactose.

2 %. Trifolium pratense. Little or no growth.

Medicago sativa, Petalostemon candidus and Pisum sativum (Fig. 6 H). Bacteroids numerous, small polar staining rods and small forms with granules. A few irregular cells. .6—.8 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 6 I). Bacteroids few, .8—1 × 1—4 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 6 G). Small polar staining rods, a few triangular and irregular. .4 × 1—2 μ.

Hiltner and Stoermer (1903) found that the organisms from the soy bean produced bacteroids abundantly in 1 % galactose, but that those from the pea and the locust made but little growth.

2 % + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense and Lathyrus odoratus. Small rods .3 × 1—1.5 μ, a few larger oval and irregularly stained bacteroids 1 × 1.5—2 μ.

Medicago sativa and Petalostemon candidus (Fig. 6 M). Numerous round, elongated or irregular bacteroids, 1—2 × 2—6 μ. Granular or banded.

Phaseolus vulgaris and Pisum sativum. Little or no growth.

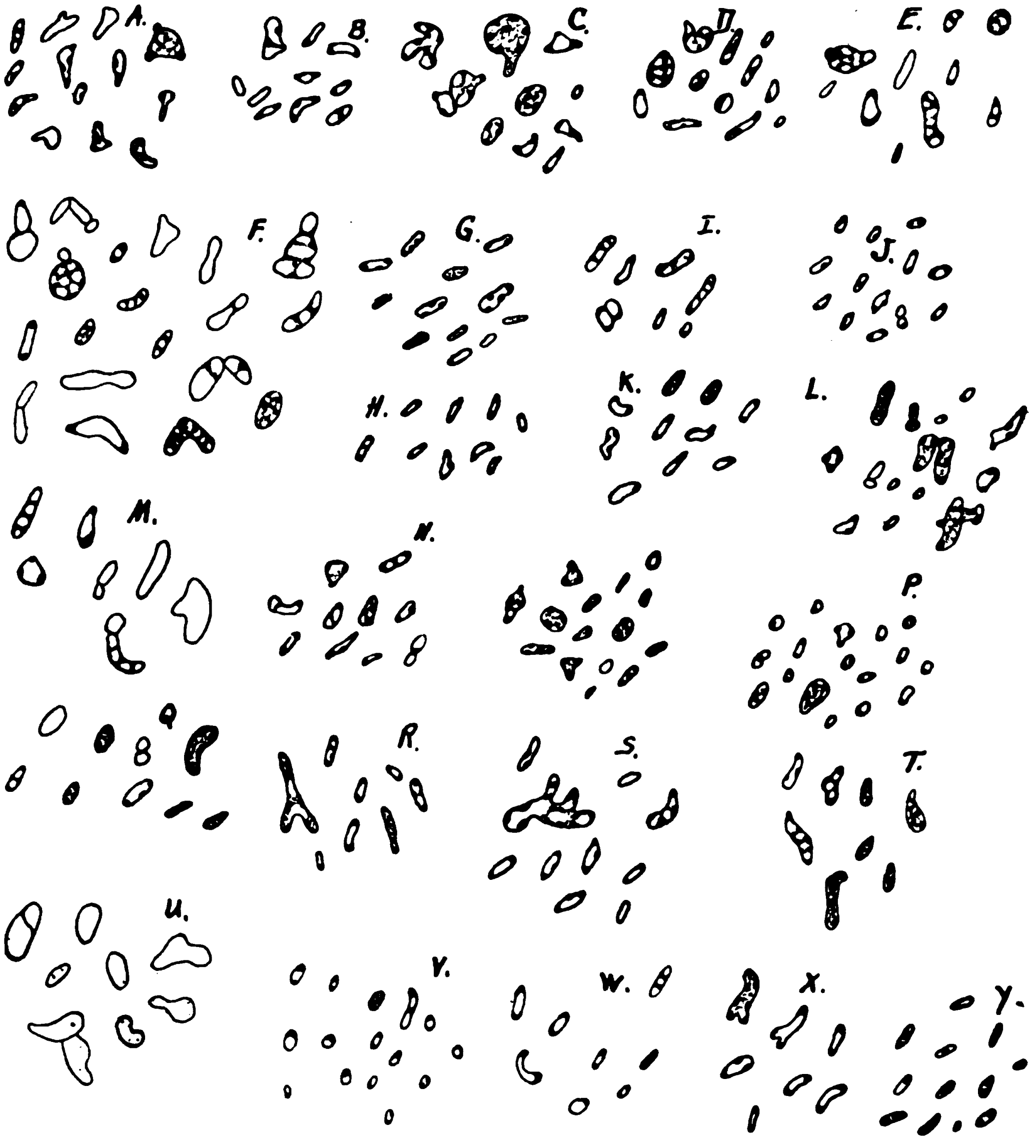


Fig. 6. A Pisum sativum in 2 % mannose. B Medicago sativa in 2 % mannose. C Trifolium pratense in 2 % mannose. D Lathyrus odoratus in 2 % mannose. E Petalostemon candidus in 2 % mannose + .5 % ammonium phosphate. F Medicago sativa in 2 % mannose + .5 % ammonium phosphate. G Phaseolus vulgaris in 2 % galactose. H Pisum sativum in 2 % galactose. I Lathyrus odoratus in 2 % galactose. J Medicago sativa in 2 % galactose. K Trifolium pratense in 2 % galactose. L Medicago sativa in 2 % inosit. M Medicago sativa in 2 % galactose + .5 % ammonium phosphate. N Lathyrus odoratus in 2 % inosit. O Pisum sativum in 2 % inosit. P Petalostemon candidus in 2 % inosit. Q Trifolium pratense in .1 % saccharose. R. Phaseolus vulgaris in 1 % saccharose. S Phaseolus vulgaris in 3 % saccharose. T Lathyrus odoratus in .1 % saccharose. U Lathyrus odoratus in 10 % saccharose. V Petalostemon candidus in .2 % saccharose. W Pisum sativum in .1 % saccharose. X Phaseolus vulgaris in 2 % saccharose + .5 % ammonium phosphate. Y Phaseolus vulgaris 2 % + .5 % ammonium phosphate.

Conclusions. Galactose is a suitable medium alone or with ammonium phosphate for the production of bacteroids by certain bacteria.

Levulose.

2 %. Phaseolus vulgaris. Bacteroids produced in large numbers, resembling those of dextrose.

Hiltner and Stoermer (1903) found that B. radicicola from the soy bean, pea and locust produced bacteroids in a 1 % solution of levulose. The bacteroids produced by the organisms from the soy bean were very large, and exhibited a foamy structure.

Inosit.

2 %. Trifolium pratense. Numerous bacteroids. Many rods, large swollen oval cells, some irregular types. Generally granular. Rods .4 × 1 μ to 2 × 4 μ. Many show very distinct evidence of budding.

Medicago sativa (Fig. 6 L). As in the preceding, the cells averaging a little smaller.

Petalostemon candidus (Fig. 6 P). Bacteroids numerous. The majority are small spheres about 1 μ in diameter, each with a single granule. Some cells reach a size of 1.5 × 3 μ. The latter show reticulation very distinctly.

Lathyrus odoratus (Fig. 6 N). Bacteroids few, varying from small types .4 × 1 μ to larger forms 1 × 2.5 μ.

Pisum sativum (Fig. 6 O). Numerous small bacteroids as in the preceding.

Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Conclusions. Inosit is a suitable carbohydrate nutrient for the development of the bacteroids.

Saccharose.

.1 %. Trifolium pratense (Fig. 6 Q). Polar staining rods .4 × 1 μ to 2 × 4 μ.

Medicago sativa, Lathyrus odoratus and Phaseolus vulgaris. Numerous granular and somewhat irregular bacteroids .1—1.5 × 2—5 μ.

Petalostemon candidus. Short bacteroids, granular. From spheres .8 μ in diameter to elongate forms 1 × 1.5—2 μ.

Pisum sativum. Numerous small granular or banded bacteroids. .5 × 2—3 μ.

.2, .5, 1, 2 and 5 %.

Petalostemon candidus (Fig. 6 V). Minute spheres with one or two granules. .6—1 × 1—2 μ.

The remainder as in the .1 %.

10 %. Trifolium pratense and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Medicago sativa and Petalostemon candidus. A few spherical and oval forms with one or two polar granules. Cells .6—1 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 6 U). Numerous large bacteroids showing heavy outlines, but with protoplasm of the interior staining very lightly. A few small granules. Many irregular and budding cells. 1—2 × 2—5 μ.

Pisum sativum. Very few, as in Lathyrus odoratus.

15 %. Trifolium pratense, Pisum sativum, Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Lathyrus odoratus, Medicago sativa and Petalostemon candidus. As in the 10 % solution.

20 %. Medicago sativa. Little or no growth.

Trifolium pratense, Phaseolus vulgaris, Lathyrus odoratus and Pisum sativum (Fig. 7 A). Numerous bacteroids, elongate banded forms for the most part. 1—1.5 × 1—6 μ.

Petalostemon candidus. A few small spherical, granular forms. .7—1 μ in diameter.

30 and 50 %. No growth.

Conclusions. Saccharose is a suitable nutrient for the development of bacteroid. Growth occurs in 20 % solution, but not in the 30 % or the 50 %. The concentration of the sugar has no notable influence on the development of the bacteroids.

Hiltner and Stoermer (1903) conclude that .5 % solution of saccharose is a favorable medium for the production of bacteroids, particularly with the organisms from the Robinia. Laurent (1891) found the bacteroids produced in 5—10 % saccharose solutions to be larger and less branched than those that are produced on pea gelatin.

2 % + normal acids and alkalies. No effect other than diminution of growth could be observed after the addition of varying amounts of

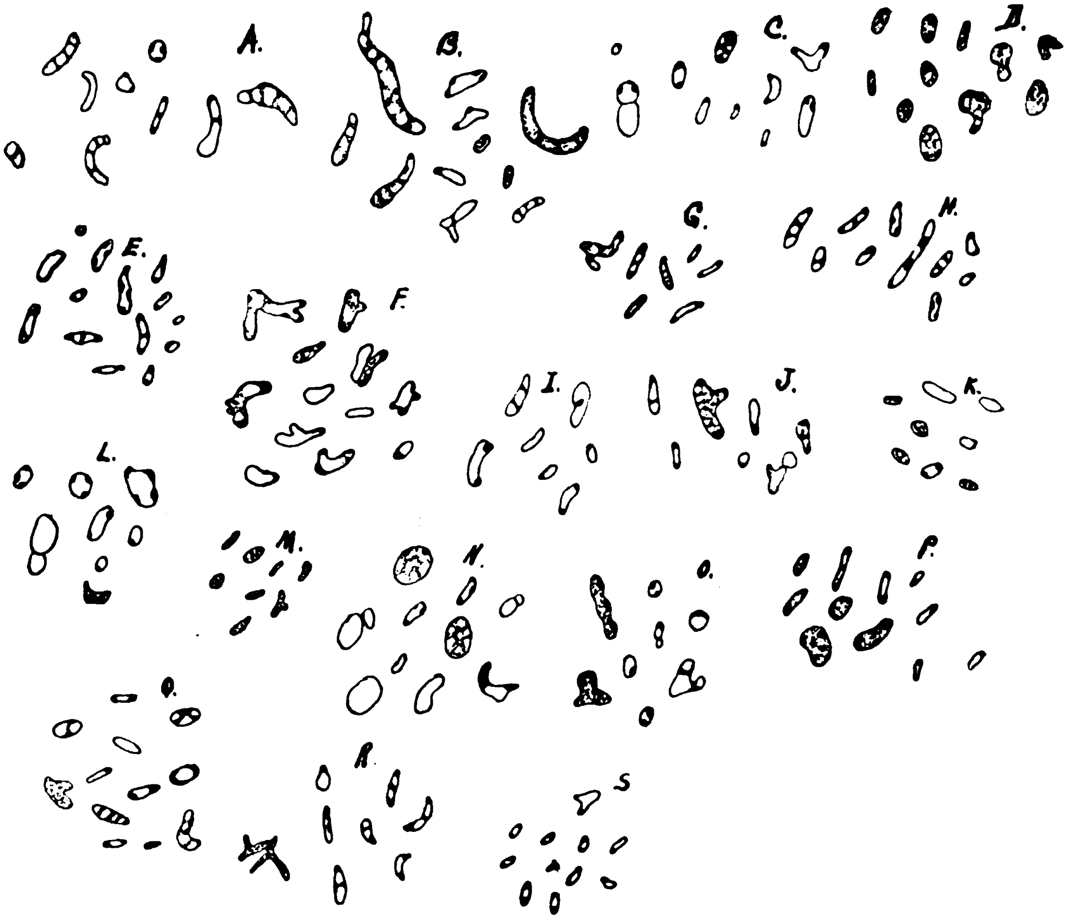


Fig. 7. A Trifolium pratense in 20 % saccharose. B Phaseolus vulgaris in 2 % saccharose + $^1/_2$ c.c. 10 % solution of potassium nitrate. C Trifolium pratense in 2 % saccharose + $^1/_{10}$ c.c. 10 % potassium nitrate. D Medicago sativa in 2 % saccharose + $^1/_{10}$ c.c. 10 % solution of saccharose. E Lathyrus odoratus in 2 % maltose. F Phaseolus vulgaris in 2 % maltose. G Pisum sativum in 2 % maltose. H Trifolium pratense in 2 % maltose. I Phaseolus vulgaris in 2 % maltose + .5 % ammonium phosphate. J Medicago sativa in 2 % maltose + .5 % ammonium phosphate. K Petalostemon candidus in 2 % maltose + 1 % sodium succinate. L Lathyrus odoratus in 2 % maltose + 1 % sodium asparaginate. M Petalostemon candidus in 2 % maltose + 1 % sodium asparaginate. N Medicago sativa in 2 % maltose + 1 % sodium asparaginate. O Medicago sativa in 2 % maltose + 1 % asparagin. P Phaseolus vulgaris in 2 % maltose + clover extract. Q Medicago sativa in 2 % maltose + clover extract. R Lathyrus odoratus in 2 % maltose + clover extract. S Trifolium pratense in 2 % lactose.

malic acid, citric acid, and sodium hydrate. The bacteroids, when they appeared were of the same character as those to be found in the saccharose solutions alone.

2 % + .5 % ammonium phosphate. In all cases bacteroid production occured as in the 2 % solution in the absence of the ammonium phosphate.

2 % + potassium nitrate.

A 10 % solution of potassium nitrate was prepared and varying amounts of this were added to 100 c. c. of 2 % saccharose solution as follows: $^1/_{20}$, $^1/_{10}$, $^1/_5$, $^1/_2$, 1, 2, 5 and 10 c. c. In general the appearance of the bacteroids is identical in all solution where there was any growth. The type of bacteroid produced does not differ essentially in any case from that produced in saccharose solutions in the absence of the nitrate (Fig. 7 B, C and D).

Trifolium pratense (Fig. 7 C). Numerous oval and elongate bacteroids .1 × 1—2 μ.

Medicago sativa, Petalostemon candidus. As in Trifolium pratense.

Lathyrus odoratus and Phaseolus vulgaris. Numerous bacteroids ranging in shape and size from minute rods .4 × 1 μ to large forms 1 × 8 μ. Some are very irregular. All are banded or granular.

Pisum sativum. As in Medicago.

Conclusions. Potassium nitrate in sugar solutions has no specific effect upon the development or upon the type of bacteroids produced.

2 %	saccharose	+ 10, 5, 1 %	and	.1 %	fluid extract of	Tolu
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Catechu
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Physostigma
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Red Clover Blossoms
2 „	„	+ 1 „	„	.1 „	„ „ „	Glycyrrhiza
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Kino
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Baptisia
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Senna
2 „	„	+ 10, 5, 1 „	„	.1 „	„ „ „	Scoparius

In none of these cultures could any specific action of the extract be observed upon the morphology of the organism. Bacteroid production as such is not induced by the presence of the legume extracts. In many cases growth is entirely inhibited by the higher concentrations of the extracts, and in other cases the bacteroids resemble those produced in the pure saccharose solution or in the solution of the extract without the sugar.

Several authors have studied the effect of various legume extracts in solutions of saccharose. Stutzer (1901) found that the bacteria from both the pea and the vetch produce bacteroids in abundance in certain concentrations of saccharose in pea and lupine seed extract. In some cases double branching was evident. Beijerinck (1891) used a solution containing $1^{1}/_{2}$—2 % saccharose in a broth made from bean sprouts. The organism in this solution showed all the developmental stages, rods, bacteroids, swarmers and stars. The addition of phosphate was believed to increase the production of stars.

2 % saccharose + Witte's peptone.

A 10 % solution of Witte's peptone was added to 100 c. c. lots of 2 % saccharose solution as follows: $^{1}/_{10}$, $^{1}/_{2}$, 1, 2, 5 and 10 c. c. Growth is luxuriant in all but the higher concentrations. The amount of peptone present does not seem to materially modify the shape of the bacteroids produced, as long as any growth occurs. Following is the record of the appearance in the most dilute solution.

Trifolium pratense. Numerous spherical and irregular bacteroids, some slightly branched. From .6 μ in diameter to 2 × 3 μ. The smaller forms have polar granules, the larger are reticulate and granular.

Medicago sativa and Lathyrus odoratus. Numerous oval, budding, uniformly stained cells, a few somewhat granular or reticulate. .8—1.5 × 1—3 μ.

Petalostemon candidus. Numerous large oval spherical or irregular. 1 × 1.5—3 μ.

Phaseolus vulgaris. Numerous large oval, spherical or irregular cells, for the most part uniformly stained. 1—2.5 × 2—4 μ.

Conclusion. A small amount of peptone is favorable to the growth of the bacteria, but larger amounts completely inhibit the development. The peptone exerts no specific effect upon the development of bacteroids.

Grieg Smith (1899) found that branched and irregular forms predominated in a medium of sucrose bouillon.

Maltose.

2 %. Trifolium pratense (Fig. 7 H). Numerous elongated, granular and banded bacteroids. .8 × 1—3 μ.

Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus (Fig. 7 E). Numerous small oval and elongate cells, for the most part with polar granules. From cocci .6 μ in diameter to rods .8 × 1—2 μ.

Pisum sativum (Fig. 7 G). Numerous bipolar rods, a few banded.

Hiltner and Stoermer (1903) record the production of bacteroids in 1% maltose by organisms from the nodules of the soy bean, pea and locust.

2 + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense (Fig. 7 I). Numerous small spheres and ovals, faintly stained, usually with a single granule.

Medicago sativa, Petalostemon candidus (Fig. 7 J). Numerous irregular, elongate or branched bacteroids. .6—.8 × 1—3 μ.

Lathyrus odoratus and Pisum sativum. Little or no growth.

Phaseolus vulgaris. A few banded bacteroids. .6—1 × 2—3 μ.

2 + 1 % sodium succinate.

Trifolium pratense, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Little or no growth.

Petalostemon candidus (Fig. 7 K). Small spherical or banded rods. .5—.8 × 8—2 μ.

2 + 1 % ammonium citrate.

Trifolium pratense. A very few small spheres, .6 μ. Each with a granule.

Petalostemon candidus. As in Trifolium pratense but slightly larger. No growth with the remainder.

2 + 1 % sodium asparaginate.

Medicago sativa (Fig. 7 N). Numerous bacteroids of various shapes. From small oval and spherical forms .8 μ to large forms 3 × 4 μ. The latter are for the most part reticulate.

Petalostemon candidus (Fig. 7 M). Numerous small uniformly stained rods and spheres. .6 × 1—2 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 7 L). Numerous bacteroids, small spheres and larger forms showing very distinct granules. Small. .8 × 1 μ. Larger 2 × 3 μ.

2 + 1 % asparagin. As in the preceding.

2 + 1 % peptone.

Medicago sativa. A few straight uniform rods.

Petalostemon candidus. Small bacteroids, some uniform rods, others polar or granular. .5 × 1—2 μ.

No growth with the remainder.

2 % + clover extract.

Medicago sativa (Fig. 7 Q). Minute rods .4 × 1 μ to longer forms and some branched .1 × 4 μ.

Petalostemon candidus and Lathyrus odoratus. Small banded bacteroids, some branching.

Growth in the remainder scanty.

Conclusion. Maltose is a favorable carbohydrate nutrient for the development of bacteroids.

1 %	maltose	— 10, 5, 1 %	and	.1 %	fluid	extract	of	Tolu	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Catechu	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Physostigma	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Red clover blossoms	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Glycyrrhiza	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Kino	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Baptisis	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Scoparius	+
1 „	„	— 10, 5, 1 „	„	.1 „	„	„	„	Senna	+

No specific influence of any of the above solutions could be observed in the production of bacteroids. Many exert a decided antiseptic action, and entirely prevent growth, at least in the more concentrated solutions.

Lactose.

2 %. Trifolium pratense, Medicago sativa (Fig. 7 S). Numerous short bipolar rods, a few irregular cells. .3—.6 × .3—2 μ.

Hiltner and Stoermer (1903) found bacteroids produced by soy bean organisms from 1 % lactose solutions. Neumann (1902) secured bent rods but no branching with 1 % lactose + .2 % ammonium phosphate.

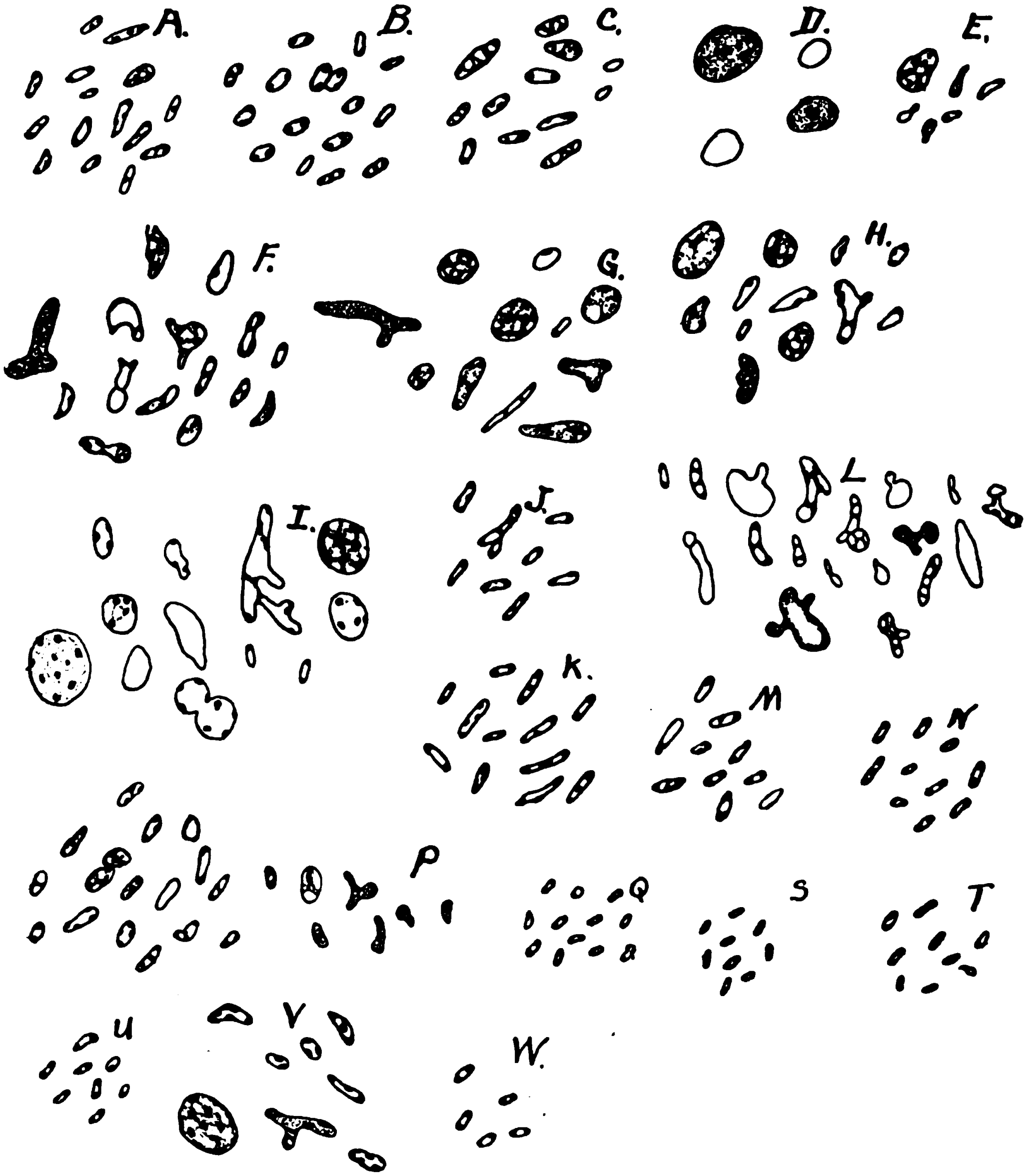


Fig. 8. A Medicago sativa in 2 % raffinose. B Petalostemon candidus in 2 % raffinose. C and D Phaseolus vulgaris in 2 % raffinose. E Medicago sativa in 2 % mannite. F Pisum sativum in 2 % mannite. I Phaseolus vulgaris in 2 % mannite. L Medicago sativa in 2 % mannite + .5 % ammonium phosphate. J and K Phaseolus vulgaris in 2 % mannite in clover. M Pisum sativum in 2 % melitose. N Petalostemon candidus in 2 % melitose. O Phaseolus vulgaris in 2 % melitose. P Lathyrus odoratus in 2 % melitose. Q Lathyrus odoratus in 2 % inulin. S Pisum sativum in 2 % inulin. T Petalostemon candidus in 2 % inulin. U Medicago sativa in 2 % inulin. V Phaseolus vulgaris in 2 % inulin + .5 % ammonium phosphate. W Phaseolus vulgaris in 2 % starch.

Raffinose.

2 %. Trifolium pratense. Rods with polar and banded staining. .6—.8 × 1—3 μ.

Medicago sativa (Fig. 8 A). Numerous granular bacteroids. .6 × 1—3 μ.

Petalostemon candidus (Fig. 8 B). Numerous spherical and oval bacteroids, faintly stained, usually with one or more granules. From spheres .5 μ in diameter to rods 1 × 2 μ.

Lathyrus odoratus. Numerous large banded rods. .5—.8 × 1—5 μ.

Pisum sativum. A few small bacteroids, banded.

Phaseolus vulgaris (Fig. 8 C and D). Numerous large irregular and rod-shaped reticulate and granular bacteroids. .6—1.5 × 1—6 μ.

Conclusion. Raffinose is a suitable medium for the development of bacteroids. Hiltner and Stoermer (1903) record bacteroid production in 1 % raffinose solution for the organisms from the soy bean.

Mannite.

2 %. Trifolium pratense and Petalostemon candidus. Numerous granular and banded bacteroids. .6—.8 × 1—3 μ.

Medicago sativa (Fig. 8 E). Small granular forms .8—1 μ and some larger forms 2 × 4 μ.

Lathyrus odoratus (Fig. 8 H). Numerous bacteroids, both small polar types and large spherical yeast like forms, granular and reticulate. Some branching. Cells .8 × 1 to 3 × 4 μ.

Pisum sativum (Fig. 8 F). Numerous granular rods and large oval and branched forms, very irregular. Size varying from .4 × .6 to 2 × 3 and 1.5 × 6 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 8 I). Much as in Pisum sativum, but the large reticulate yeast cells reach a size of 3 × 4 μ and even 5 × 6 μ.

2 + .5 % ammonium phosphate.

Trifolium pratense. Little or no growth.

Medicago sativa (Fig. 8 L). Numerous large and irregular bacteroids, branched and budding forms numerous. Some reach a size of 3 × 4 μ. Many rods with banded staining.

Petalostemon candidus. As in the 2 %.

Pisum sativum and Phaseolus vulgaris. Numerous large yeast like reticulate cells, some branched forms.

Conclusion. Mannite, both with and without ammonium phosphate is an unusually suitable nutrient for the development of bacteroids.

Neumann (1902) found that 1 % mannite + .2 % ammonium phosphate with organisms from the V. faba allowed the development of straight and bent rods only. Hiltner and Stoermer (1903) used the organisms from the soy bean in a 1 % solution and secured an abundant production of bacteroids. The addition of .1 % asparagin induced a considerable amount of branching.

Melitose.

2 %. Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris (Fig. 8 M, N, O and P). Numerous short bacteroids, polar, granular or banded. .6—1 × 1—2 μ.

Conclusion. Melitose is a suitable carbohydrate for the development of bacteroids.

Inulin.

2 %. Trifolium pratense, Medicago sativa, Petalostemon candidus, Lathyrus odoratus, Pisum sativum and Phaseolus vulgaris (Fig. 8 Q, S, T, U). Short, regular, bipolar staining rods. .6 × 1 μ.

2 + .5 % ammonium phosphate.

A slight growth in all cases with the production of large yeast like cells, reticulate. Some large branching forms also.

Conclusion. Inulin alone and with ammonium phosphate is a favorable medium for the development of bacteroids.

Stutzer (1901) found that a 2 % solution of inulin in 1 % pea extract was a favorable medium for the development of the bacteroids of

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

the organism from the root nodules of the pea. Neumann (1902), using V. faba bacteria, secured good branching forms with 1 % inulin + .2 % ammonium phosphate.

1 and 2 %. Trifolium pratense. Numerous large bacteroids.

Petalostemon candidus, Medicago sativa, Lathyrus odoratus and Pisum sativum. Little or no growth.

Phaseolus vulgaris. Numerous small bipolar stained rods.

Hiltner and Stoermer (1903) conclude that starch acts in the same manner as does dextrose. Stutzer (1901) states that the addition of 2 % starch to a pea infusion induced abundant growth but branching was are.

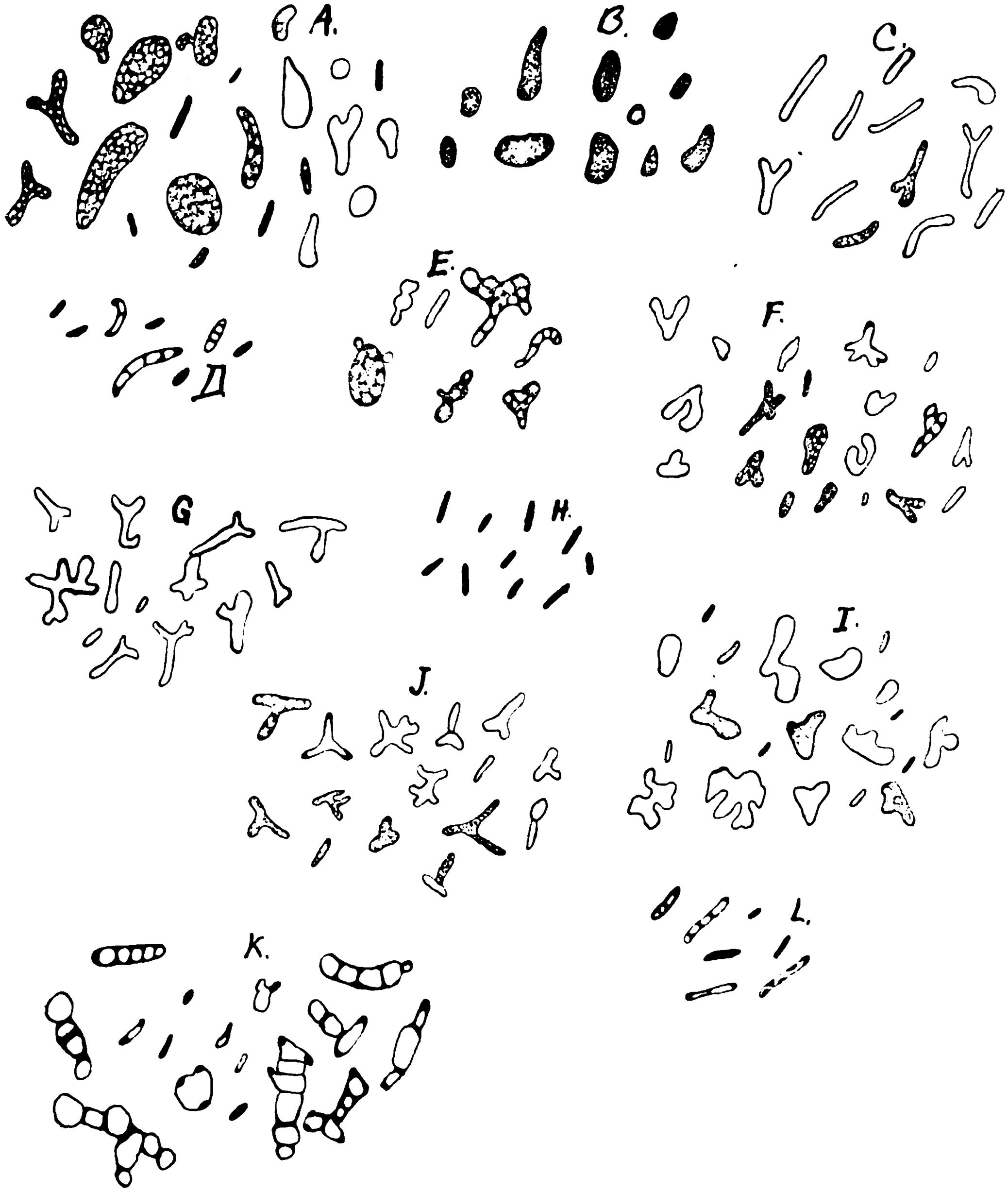


Fig. 9. From the nodules. A Trifolium pratense. B Trifolium hybridum. C Medicago sativa. D Petalostemon violaceus. E Vicia americana. F Vicia villosa. G Vicia sativa. H Vicia faba. I Lens esculenta. J Lathyrus odoratus. K Lathyrus latifolius. L Phaseolus vulgaris.

Morphology of bacteroids from the root nodules.

In order to facilitate comparison between the morphological characters of the bacteroids of B. radicicola in the root nodules and in culture media, descriptions and drawings of a few of the types to be found in the nodules are included. These are drawn to the same scale as are the forms already described.

Lupinus perennis. Straight non-vacuolate and undifferentiated rods .3—.4 × 1—1.5 μ.

Lupinus arboreus. As in Lupinus perennis. Rods not at all differentiated, and showing no characteristic bacteroid formation.

Trifolium pratense (Fig. 9 A). Bacteroids variable in size. The most characteristic type is club shaped or piriform. In the larger cells a definite reticulation may be plainly observed. In a few cases some of the narrower cells show a forked tip. Budding of some of the larger cells is evident. .3 × 1 μ to 2 × 8 μ.

Trifolium hybridum (Fig. 9 B). The bacteroids closely resemble those of the preceding.

Trifolium repens. The bacteroids resemble those of the Trifolium pratense, but the reticulations are not as well marked.

Medicago sativa (Fig. 9 C). The greater portion of the bacteroids consist of very uniform long rods, a few being forked. Granulation and vacuolization is not evident. .6—.8 × 2—7 μ.

Petalostemon violaceus (Fig. 9 D). The bacteroids are in the form of banded rods, rather faintly stained. Many minute rods are also present.

Vicia americana (Fig. 9 E). Many large vacuolate yeast like cells, with very evident budding. The cells are very irregular and of considerable size as 3 × 4 μ and 2 × 8 μ.

Vicia villosa (Fig. 9 F). The bacteroids are of all shapes, very irregular. Many banded rods and branched forms. The larger cells are plainly reticulate.

Vicia sativa (Fig. 9 G). The bacteroids are very characteristically branched, usually less than 1 μ in diameter. Some are twice branched, most are at least once forked.

Lens esculenta (Fig. 9 I). Many small rodlets and numerous large bacteroids, very irregular, for the most part staining uniformly, or showing slight vacuolization.

Lathyrus odoratus (Fig. 9 J). Numerous narrow branched cells, many granular and showing banding to some extent. For the most part they stain uniformly.

Lathyrus latifolius (Fig. 9 K). Many small rodlets. Bacteroids very large, showing a distinct banding. Often they seem to be composed of spherical segments that might easily be detached from each other. Some reach size of 2 × 10 μ.

Phaseolus vulgaris (Fig. 9 L). For the most part uniform rods, a few showing some vacuolization or banding.

A comparison of bacteroids from nodules and from artificial media.

A comparison of the bacteroids to be found in the nodules of various species of legumes with those that are to be found in artificial media clearly shows that in each case we are dealing with phenomena of the same kind. The bacteria from the various legume nodules differ greatly among themselves, the same is true of the bacteroids from the artificial media. The limits of variability and the resemblances between the organisms from each source are noted below.

Trifolium pratense. The most characteristic type of bacteroid in the root nodule is the large club-shaped or piriform cell. Similar forms are to be found in certain of the culture media, although generally somewhat smaller. In most cases, however, the bacteroids are usually small, banded, granular or vacuolate rods. There seems to be little tendency for branches to occur in either nodules or media.

Medicago sativa. The organism from the alfalfa is somewhat more variable in artificial media than in the root nodules of the host.

In the latter the bacteroids are for the most part large uniform or vacuolate rods, rarely branched; in the former they vary from minute granular cocci to large yeast like cells with evident budding. Branching occurs but rarely in any case.

Petalostemon candidus. In some respects the organism from the prairie clover is the most pleomorphic of the forms studied. In artificial media it ranges from small uniformly stained rods to types that are very profusely branched. In most cases banded or vacuolate rods of various sizes are to be observed. The cultures in carbohydrate media generally show small granular cells, those from the glycerin the best branching.

Lathyrus odoratus. The organism from the nodules shows distinct branching and forking of the cells. The same is true to a less degree in cultures. In some cases reticulate and yeast like bacteroids are produced, in others banded and segmented types such as are found in the nodules of Lathyrus latifolius. No very exact correspondence can be traced between the types of the nodules and those of the media.

Pisum sativum. The organism from the pea is also very variable in artificial media. All types from short rods with polar granules to large forms with distinct reticulation and banding are to be observed.

Phaseolus vulgaris. The organism from the nodules of the bean is the most pleomorphic and responsive to varied culture conditions of any of the races tested. In the nodule the bacteroids are granular or vacuolate rods. In artificial media a much greater variety is to be found; the bacteroids vary from short rods to enormous yeast like reticulate cells, and to vacuolate rods as long as 10—12 μ. Branching occurs more commonly in media than in the nodules.

Conclusions. It is evident that practically every shape of bacteroid to be found in the root nodule may be duplicated hy organisms grown in artificial media, indeed the variability is much greater in the media than in the nodules. No exact correspondence can be noted in any given organism between the types in the nodules and those of media, although differences are constantly to be observed between organisms from different sources when grown in the same media.

The factors determining bacteroid production.

From the facts that have been presented it is very evident that an exact analysis of the factors which determine the production of bacteroids and their exact form is a difficult matter. It is necessary to take into consideration the internal and hereditary tendencies of an organism, and the external factors that are influential in molding the form. While it is true that if we were completely informed as to the environment of a cell we should be able to tell much as to its development, yet there seems to be a residue of insoluble factors that are inseparably bound up with the protoplasm in some way. In other words, the type of reaction depends upon the character of the stimulus and the constitution of the cell stimulated. Below are discussed some of the factors that may be of importance in modifying morphology.

Effect of temperature and light. Bacteroid formation occurs throughout a considerable range of temperature. It is improbable that there is any relation between temperature and bacteroid production other than the fulfillment of the tonic conditions for growth. Light is unnecessary, for bacteroids are formed either in complete darkness or in diffuse light.

Osmotic pressure. This has been found to be the determing factor in the morphology of the alga Stigeoclonium (Livingston 1900). Variations from the palmella to the filamentous type may be produced at will by varying the osmotic pressure. L. M. Loeb (1902) believes the branching of B. tuberculosis to be brought about in the same manner. Several of the experiments above outlined should indicate whether the same is true for the bacteroid production of the B. radicicola. Glycerin, for which the plasma membranes of bacteria are permeable, was used in 1 %, 2 % and 5 % solutions. Bacteroids formed in all dilutions with nearly equal facility. If, as is probable, the glycerin passes through the membranes of the cell with readiness, no great variations of osmotic pressure can be induced. To obviate this difficulty, saccharose solutions in various concentrations from .1 % —50 % were used. Many of the types of organisms fail to grow in the higher concentrations, but there is no evidence of any determinative influence of the osmotic pressure on the formation of bacteroids. The same is true also of the various concentrations of plant extracts used. The composition of the substance itself and not variations in the osmotic pressure seem to be determinative.

Decreased oxygen pressure. A lowered partial pressure of oxygen such as would be found in cultures of the organism has been invoked by Süchting (1903) as the probable cause of the formation of bacteroids in liquid cultures but not in solid media. It is evident that this explanation is not entirely satisfactory, for a particular organism will produce bacteroids in one liquid culture medium, and fail to do so in another, although there is a luxuriant growth. There is, of course, the possibility that an abundant supply of oxygen is the determining factor in some cases. There are certainly other factors involved, however.

Reaction of the medium. This has no essential relation to the development of bacteroids.

"Nitrogen Hunger". Hiltner (1903) believes that bacteroids are never produced until all of the available nitrogen of the medium has been exhausted. The presence of a nitrate, for example, is supposed to cause a very rapid and luxuriant development as long as there is an abundant supply of this nitrate nitrogen. As soon as this utilized, and the organism is forced to obtain its supply from the air, bacteroids are produced. A comparison of the saccharose solutions described previously shows that there is little or no difference in ability to produce bacteroids in media containing a considerable amount of nitrogen as nitrate and those containing little or none. The presence of ammonium salts, further more, in many cases does not prevent abundant bacteroid formation.

Specific formative materials in legumes. It has been held by some authors that the legume secretes certain substances which determine the production of bacteroids in the roots. No evidence in support of this theory can be found in the experiments above outlined. In no case could any determinative influence be observed in cultures containing a great variety of aqueous, alcoholic, and commercial fluid extracts of various legumes.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Accumulation of metabolic products. With some species of bacteria the production of involution forms may be quite definitely attributed to the influence of the metabolic products of the organism. This is the case for example with the Bacterium aceti. With B. radicicola, on the other hand, however important the metabolic products of growth may be in directly influencing the production of bacteroids, the fact that there is such a variation in morphology according to the medium used would indicate that the constituents of the media have some direct influence. In any event, the metabolic products vary with the constitution of the medium, so that the ultimate cause must be the nature of the nutrients supplied.

Nutrition. The source of the various elements necessary for growth seems to be a more potent cause of variation than any of the preceding. The effect of nutrition cannot be analyzed at present; why one substance as glycerine stimulates a marked production of bacteroids and another as peptone inhibits their production is a question that cannot be answered. A great complex of factors is to be dealt with in this problem of nutrition; what one of these or what combination of them it is that determines form it is impossible to state.

Unity or multiplicity of species.

There is considerable evidence that there are real racial differences among the organisms derived from different species of legumes. It is probable that we have to do with a group of organisms in which the members are closely related varieties or species.

The nature of the bacteroid.

Observation of some cultures might well lead to the inference that the bacteroids in these cases are degenerate or involution forms, but in many other cases where budding and rapid multiplication of the bacteroids as such is taking place, one is convinced that the normal cell activities are being carried on successfully. In the latter case certainly we are dealing with a reaction to environmental conditions. It is not necessary to infer that there is a complex life history through which the organism passes in a cycle of development. Transfers to suitable media indicate that proliferation of bacteroids may continue indefinitely. It is quite certainly true that there is no hereditary tendency for such a cycle of development, and that the morphology of the organism is wholly dependent on external conditions. The fact that the organism at different periods of growth in the same medium may vary in morphology does not militate against this conclusion, for the environmental conditions are constantly changing through the formation of metabolic products and the diminution of the food supply.

Systematic position of the organism.

The nodule organism of the legumes varies in morphology from minute rods, multiplying by transverse divisions, to large yeast like cells with distinct foam structure of the plasm which multiply by a process of budding. Some of the characters seem to relate the organism to the Saccharomycetales of the Ascomycetes, others to the true Schizomycetes. Certainly provision for such an unusual type of organism should be made by a different generic designation at least.

The use of Bacillus and Pseudomonas does violence to evident relationships, and the old name of Rhizobium would seen to be preferable.

Summary.

1. Considerable variation in the morphology of B. radicicola may be induced in artificial media by the use of appropriate nutrients. Of the salts of the organic acids, sodium succinate brings about the most luxuriant development, and the production of the greatest variety of bacteroids.

Glycerin favors development of bacteroids, particularly branched forms, more than other nutrients.

Asparagin and sodium asparaginate, although allowing of some growth, do not offer suitable conditions for the development of bacteroids. The glucosides amygdalin and salicin constitute a favorable medium for the development of bacteroids with most of the races of organisms tested.

Peptones, either alone or in combination with other substances, exhibit a decided inhibitory effect on growth and particularly on the development of bacteroids.

Aqueous and alcoholic extracts of the clover and of the vetch have no specific determinative effect on the development of bacteroids, either when used alone or in combination with other substances. Commercial fluid extracts of the legumes in proper dilutions in some cases support a good growth of bacteroids, in other cases they entirely prevent growth. In no case are bacteroids developed more abundantly than in other media.

All of the fifteen carbohydrates tested favor the development of bacteroids, although to very different degrees. Mannite is peculiarly favorable.

2. B. radicicola in the roots of the legumes shows the same type of bacteroids as may be found in suitable culture media. On the other hand, there is little or no correspondence between the type of bacteroid produced in culture media by a certain organism and that produced in the nodule by the same form.

3. Nutrition seems to be the most important factor in determining the character of the bacteroids that are produced under different conditions.

4. It is probable that the term B. radicicola includes an entire group of closely related varieties or species which differ from each other to some degree in morphological characters.

5. Bacteroids are not involution forms in the sense that they are degenerate types incapable of multiplication and of carrying on the normal cell functions.

6. The nodule organism resembles morphologically both tbe yeasts and the bacteria. The difference between this form and those ordinarily included under the termes Bacillus and Pseudomonas justify the use of a separate generic name, Rhizobium.

I desire to thank Prof. E. O. Jordan of the University of Chicago, under whose direction this work has been done, for his many helpful criticisms and suggestions.

Citations.

Atkinson, Bot. Gaz. Vol. XVIII. 1903. p. 157, 236, 257.
Beijerinck, Botan. Zeitung. Bd. XLVIII. 1890. p. 838.
Clark, L. T., Bull. Mich. St. Agr. Coll. Ex. Sta. p. 231.

Dawson, Maria, Phil. Trans. Bot. Vol. CXCII. 1900. p. 1.
Garbowski, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 641, 737 and Bd. XX. p. 4, 99.
Harrison and Barlow, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 264, 426.
Hiltner, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 273.
Hiltner and Stoermer, Arb. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. d. Kais. Ges.-Amts. Bd. III. 1903. p 151.
Klebs, Willkürliche Entwickelungsänderungen bei Pflanzen. 1903.
Laurent, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. V. 1891. p. 105.
—, Comptes rend. T. CXI. 1890. p. 755.
Lewis and Nicholson, Bull. Oklahoma. Ag. Ex. Sta. 68. 1905.
Livingston, B. E., Bot. Gaz. Vol. XXX. 1900. p. 289 and Vol. XXXII. p. 292.
Loeb, L. M., Journ. of Med. Research. Vol. III. 1902. p. 415.
Lutz, Les microorganismes fixateur d'azote. Paris 1904.
Mazé, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1898. p. 145.
Moore, G. T., Bull. Bur. Plant Ind. U. S. Dept. of Agriculture. 71. 1905.
Morck, D., Ueber die Formen der Bakteroiden bei den einzelnen Spezies der Leguminosen. [Inaug. Diss.] Leipzig 1891.
Neumann, Landw. Versuchsstat. Bd. LVI. 1902. p. 187.
Prazmowski, Botan. Centralbl. Bd. XXXVI. 1888. p. 215.
—, Ber. a. d. Akad. Krakau. 1889.
—, Landw. Versuchsstat. Bd. XXXVII. 1890. p. 160.
de Rossi, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 289 u. 481.
Schneider, American Naturalist. Vol. XXVII. 1894. p. 782.
—, Bot. Gaz. Vol. XXXIV. p. 64; Vol. XXXV. p. 51.
Smith, Grieg, Proc. Linnean Soc. New South Wales. Vol. XXXIV. 1890. p. 653.
Smith, Theobald, Note on the stability of the cultural characters of the tubercle bacillus with special reference to the production of capsule. (Reprint Trans. 1. Annual Meeting of the National Association for the Study and Prevention of Tuberculosis.)
Stutzer, Mitteil d. landwirtsch. Inst. der Kgl. Universität Breslau. Bd. III. 1900. p. 57.
Süchting, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 377, 417, 496.
Woronin, Ann. Sci. nat Bot. Sér. 5. T. VII. p. 73.
Zinsser, Pringsheims Jahrb. Bd. XXX. 1897. p. 423.

Nachdruck verboten.

Ureumspaltung bei Nichtvorhandensein von Eiweiss.

Von Dr. **N. L. Söhngen,** Middelburg, Holland.

§ 1. Allgemeine Betrachtungen. Ureum als Energiequelle.

Bei Untersuchungen über ureumspaltende Organismen kennzeichneten sich bis jetzt die Kulturböden durch das Vorhandensein von Eiweiß.

v. Jaksch[1]) und Beijerinck[2]) stellten aber schon einige Untersuchungen mit Salzen organischer Säuren als Kohlenstoffquelle an.

Die Untersuchungen von v. Jaksch im Jahre 1881 sind vornehmlich von Interesse durch das Studium der Nahrungsbedingungen dieser Mikroben. Sie zeigen uns, daß Kohlehydrate, Salze von Fettsäuren und von organischen mehrbasischen Säuren vom Ureumspalter assimilierbar sind.

Die höchst interessante Abhandlung über die Ureumspaltung von Beijerinck handelt hauptsächlich über die Organismen, welche bei Anwendung seiner Anhäufungsmethode in Fleischwasser mit 10 Proz. Ureum in den Vordergrund treten.

Im Laufe der Untersuchung sind einige Versuche angestellt worden mit Kulturflüssigkeiten, welche die folgende Zusammensetzung hatten: Leitungswasser, 5 Proz. Ureum, 0,025 Proz. K_2HPO_4 und 1 Proz. Ammon-

---

1) Zeitschr. f. phys. Chemie. 1881.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.

oxalat, Natriumacetat, Seignettesalz, Ammonzitrat oder Ammonmalat. In diesen Kulturböden findet nach Impfung mit Gartenerde oder Jauche eine kräftige Ureumspaltung statt. Das hier zugefügte Ureum wird nicht gänzlich gespalten. Die leicht assimilierbaren Verbindungen, wie Ammonmalat und -zitrat, geben Veranlassung zu einer Spaltung von bezw. 4 und 3 Proz. Ureum, indem bei den weniger leicht zersetzlichen Verbindungen, wie Ammonoxalat, 2 Proz. Ureum gespalten wird.

Das Studium der Mikroben, welche in diesen Kulturen auftraten, wurde nicht fortgesetzt.

Die nachfolgenden Untersuchungen haben hauptsächlich den Zweck, zu zeigen, daß es viele ureumspaltenden Mikroben gibt, welche kein Eiweiß bedürfen, und daß die großen Quantitäten Kohlehydrate und Salze organischer Säuren, welche dem Mikrobenleben im Ackerboden zur Verfügung stehen, als Kohlenstoffquelle außerordentlich geeignet sind. Das Ureum kann dann als Stickstoff- und als Energiequelle zu Diensten stehen.

Einige vorläufige Versuche führten zu der Ueberzeugung, daß die verschiedensten Kohlenstoffquellen in Kulturflüssigkeiten, welche diese Verbindungen und Ureum aufgelöst in Leitungswasser 0,05 K_2HPO_4 enthalten, außerordentlich für das Wachstum ureumspaltender Mikroben geeignet sind.

Werden diese in dünnen Flüssigkeitsschichten in Erlenmeyer-Kolben bei 33°, der Optimumtemperatur des Wachstums, kultiviert, so treten nach Impfung mit Gartenerde oder Jauche kräftige Arten in den Vordergrund, bei geringerer Temperatur minder kräftige Organismen, besonders Mikrokokken.

Der Ausschluß anderer Gruppen ist in diesen Kulturböden so vollkommen, daß einige Tage nach dem Impfen mit rohen Materialien nur noch ureumspaltende Arten vorhanden sind.

Welche ureumspaltenden Arten in den Vordergrund treten, hängt von der Zusammensetzung der hinzugefügten Kohlenstoffquelle ab und von dem Alkalitätsgrade, bei welchem überimpft wird.

Ureum als Energiequelle.

Ureum liefert den Ureumspaltern ausschließlich Energie; unter keinen Umständen aber eignet es sich gleichzeitig zur Kohlenstoffquelle.

Mehrere Untersuchungen, welche ich hierüber anstellte, bestätigen die Richtigkeit der früheren Wahrnehmungen.

Auch gaben Versuche, wobei Ureum als oxydierbares Material bei der Sulfatreduktion angewendet wurde, somit Denitrifikation mittels Ureum, negative Resultate.

Die Rolle, welche Ureum bei dem Wachstum der Mikroben spielt, ist also scharf bestimmt.

Außer Ureum ist eine geeignete Kohlenstoffquelle notwendig, um das Wachstum der Bakterien zu sichern. Zum Teil wird diese Kohlenstoffverbindung oxydiert, und dieser Teil gibt Energie; zum Teil wird sie assimiliert.

Für die Oxydation der Kohlenstoffquelle wird nur eine sehr kleine Menge atmosphärischen Sauerstoffs verbraucht, wie man aus sehr einfachen Versuchen mit Kulturen in Stöpselflaschen ersehen kann. Nur der in den Kulturflüssigkeiten gelöste Sauerstoff steht den Bakterien zur Verfügung, und doch findet die Ureumspaltung fast in gleichem Maße statt, als wenn der Sauerstoff im Ueberflusse zutreten kann.

Wird die Kulturflüssigkeit jedoch zuvor mittels Auskochen sauerstofffrei gemacht, so wird nach Impfung in eine gefüllte Stöpselflasche kein Ureum gespalten.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß eine gute Ureumspaltung möglich ist, indem nur sehr wenig organische Verbindung oxydiert wird.

Nun ist, besonders in Kulturen mit kräftig spaltenden Mikroben, nur ein sehr geringes Wachstum zu bemerken; somit kann nur eine sehr geringe Assimilation der Kohlenstoffquelle stattfinden.

Hieraus ergibt sich schon, daß eine sehr kleine Menge einer geeigneten organischen Verbindung neben Ureum für ein vollkommenes Wachstum der Organismen hinreichend sein muß.

Um zu bestimmen, wie groß der Teil der im ganzen in der Kultur freikommenden Menge Energie ist, welche durch die Ureumspaltung frei wird, wurde die Minimalmenge von Kohlenstoffverbindung bestimmt, welche für eine normale Ureumspaltung genügt.

Zu diesem Zwecke wurden Versuche vorgenommen mit den später beschriebenen Bacillus erythrogenes und Urobacillus Jakschii in Serien von Kulturflüssigkeiten, welche neben bezw. 2 und 5 Proz. Ureum eine abnehmende Quantität Asparagin oder Ammonmalat enthielten.

Es zeigte sich, daß eine außerordentlich kleine Quantität dieser Verbindungen für eine normale Ureumspaltung genügt.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen, welche in untenstehender Tabelle niedergelegt sind, geht hervor, daß der Bacillus erythrogenes bei normalem Wachstum mit 20 mg Kohlenstoffverbindung etwa 500 mg Ureum spaltet, während der Urobacillus Jakschii mit 10 mg Kohlenstoffverbindung etwa 1800 mg Ureum spaltet.

Das Wachstum beider Mikroben ist bei kleineren Quantitäten von Kohlenstoffverbindung als die obengenannten bedeutend geringer.

Die Menge Energie, welche in den Erythrogenes- und Jakschii-Kulturen durch die Spaltung des Ureums frei wird, ist wenigstens bezw. ± 96 Proz. und 99 Proz. der im ganzen bei der Kultur freikommenden Energie.

Außerdem ergibt sich aus diesen Zahlen, daß die weniger kräftig spaltenden Arten eine größere Quantität Kohlenstoffverbindung für die Spaltung einer bestimmten Menge von Ureum brauchen, als die sehr kräftigen Spalter.

Die Zahlen geben in untenstehender Tabelle die Anzahl Kubikcentimeter NH_2SO_4 an, welche nötig sind zur Neutralisation von 50 ccm Kulturflüssigkeit nach 5 Tagen Kultur bei 30°. Innerhalb dieser Zeit war die Spaltung vollendet.

Die mit Bacillus erythrogenes geimpfte Kulturflüssigkeit enthielt Leitungswasser, 0,05 Proz. K_2HPO_4, 2 Proz. Ureum und die zugesetzte Menge Kohlenstoffquelle.

Die mit Urobacillus Jakschii geimpfte Kulturflüssigkeit hatte, ausgenommen 5 Proz. Ureum anstatt 2 Proz., dieselbe Zusammensetzung wie obenstehende.

Spaltung mittels Bacillus erythrogenes.

Quantität Kohlenstoffquelle in Milligramm	50	40	30	20	10	5
Spaltung wenn diese Asparagin ist	18,5	17,5	17	17	13	8
Spaltung wenn diese Ammonmalat ist	19,8	17,9	18,1	18	14,2	9,5

Spaltung mittels Urobacillus jakschii.

Spaltung wenn diese Asparagin ist	61,5	60	59	60	54	42
Spaltung wenn diese Ammonmalat ist	60	58	60	59	56,5	39

§ 2. Calciumsalze organischer Säuren als Kohlenstoffquelle für Ureumspalter.

Die organischen Säuren, welche im allgemeinen von Pflanzenteilen oder deren Vergärung herrühren, werden im Ackerboden hauptsächlich neutralisiert durch das darin so sehr verbreitete Calciumkarbonat.

Das allgemeine Vorkommen dieser Salze im Boden gab mir Veranlassung, zu den folgenden Untersuchungen an erster Stelle die Calciumverbindungen organischer Säuren als Kohlenstoffquelle für Ureumspalter zu wählen. Wird in einer Kulturflüssigkeit, welche ein Calciumsalz, Ureum und 0,05 Proz. K_2HPO_4 gelöst in Leitungswasser enthält, Ureum gespaltet, so hat das gebildete Ammonkarbonat nicht gleich eine beträchtliche Zunahme der Alkalität des Nährbodens zur Folge, sondern dieser wird an erster Stelle neutralisiert durch das Calciumsalz nach der Formel

$$CaR + (NH_4)_2CO_3 = CaCO_3 + (NH_4)_2R.$$

Die Calciumsalze der organischen Säuren üben also eine hemmende Wirkung aus auf die Alkalivermehrung in den Kulturen; erst wenn alles Calcium mit Kohlensäure gebunden ist, schreitet die Alkalität schnell vorwärts. Dann stimmt die Kulturflüssigkeit mit derjenigen überein, welche das Ammonsalz einer organischen Säure als Kohlenstoffquelle enthält.

Doch bekommen die Ureumspalter auch während dieser ersten Periode einen großen Vorsprung vor allen anderen im rohen Infektionsmaterial mitgeführten Sorten durch die spezifische Energiequelle, das Ureum, welches zu ihrer Verfügung steht.

Will man also Einsicht bekommen in die zahlreichen Arten schwach ureumspaltender Mikroben, so soll man die Plattenkulturen anfertigen, bevor alles Calcium an Kohlensäure gebunden ist.

Gewöhnlich werden gute Resultate erzielt, wenn die Kulturen nach 2 oder 3 Tagen ausgesät werden auf Fleischwassergelatine oder auf einen Kulturboden, welcher zusammengesetzt ist aus Leitungswasser, 0,05 Proz. K_2HPO_4, 0,05 Proz. NH_4Cl, 0,5 Proz. Calciummalat und 10 Proz. Gelatine.

Diese Proben geben uns ein schönes Bild von der großen Anzahl ureumspaltender Mikroben, welche in dem Boden vorhanden sind und welche einander beim Fortschreiten des Prozesses und bei zunehmender Alkalität verdrängen.

Es würde keinen Zweck haben, von den vielen schwachspaltenden Arten, welche ein jeder sich in wenigen Tagen verschaffen kann, eine Beschreibung zu geben, jedoch richtete eine Art durch doppelte Farbstoffbildung auf Fleischwassergelatine oder -Agar die Aufmerksamkeit auf sich. Bei meinen Untersuchungen im Oktober, November und Dezember des Jahres 1904 im Mikrobiologischen Laboratorium unter Leitung von Professor Beijerinck zu Delft trat diese Art sehr regelmäßig auf.

Bei Anwendung des folgenden Nährbodens:

100	Leitungswasser
3	Ureum
0,05	K_2HPO_4
1	Calciumtartrat oder -zitrat

mit Gartenerde infiziert und bei 23° kultiviert, gelang es, nach 2 bis 3 Ueberimpfungen in demselben Nährboden bei einem Titer von etwa 35 ccm N pro 100 ccm Nährflüssigkeit diese Gruppe nahezu zur Reinkultur anzuhäufen.

Die besonderen Eigenschaften dieser Gruppe veranlaßten mich zu einem näheren Studium derselben.

Anfänglich wurden sie der doppelten Farbstoffbildung wegen Urobacillus rubrum luteus genannt, später jedoch als Varietäten des Bacillus erythrogenes erkannt.

Beschreibung des Bacillus erythrogenes.

Bacillus erythrogenes gehört zu den sehr kräftig oxydierenden Fermenten; Zuckerarten, Salze organischer Säuren wie auch Eiweiß werden assimiliert.

Die folgenden Verbindungen geben in Leitungswasser, 0,05 Proz. K_2HPO_4 und 0,5 Proz. Ureum gelöst, gutes Wachstum:

Glukose, Maltose, Rohrzucker, Milchzucker, Asparagin, Calcium und Alkalisalze der flüchtigen Fettsäuren und der mehrbasigen Säuren.

Milch erwies sich als sehr guter Nährboden. Bei der Entwickelung in diesem Medium trat ein unangenehmer süßer Geruch auf.

Amylum wird nicht assimiliert.

Auf neutralem Fleischagar und Gelatine gedeihen die schwachspaltenden Arten besser als die kräftigeren Vertreter. Erstere können bis zu Kolonieen von 1 cm Durchmesser und 0,5 mm Dicke heranwachsen.

Der gelbe Farbstoff, welcher an den Bakterienkörper gebunden ist, wird auf jedem Nährboden, jedoch nur unter dem Einfluß des Lichtes, gebildet.

Der rote, diffundierende Farbstoff entsteht nur bei Eiweißnahrung und Lichtabschluß.

Die Bakterien sind beweglich, bilden zuweilen Schnüre.

Sporenbildung fehlt.

Die Gelatine wird von den kräftigen Vertretern stark geschmolzen, von den schwachspaltenden nicht oder wenig.

Länge der Bakterien 2—3 μ.

Breite 1—1,5 μ.

Die Ureumspaltung des kräftigsten Stammes war in Fleischwasser 2 Proz. und 6 Proz. Ureum bezw. 1,3 Proz. und 2,5 Proz. nach 5 Tagen Kultur bei 30°. Weniger kräftige Varietäten, welche hier isoliert wurden, spalteten in genannten Kulturflüssigkeiten 0,5 Proz. und 1 Proz. Ureum.

Vergleichen wir nun die Eigenschaften der von Löhnis[1]) isolierten Erythrogenes-Stämme mit den hier beschriebenen, so zeigen sie sich in Größe und doppelter Farbstoffbildung gleich; auffallend ist jedoch der Unterschied in dem Spaltungsvermögen. Bei seinen Untersuchungen wurden in Bouillon 2 Proz. und 5 Proz. Ureum bezw. $^1/_{20}$ Proz. und 1 Proz. Ureum gespalten.

Es ergibt sich also deutlich, daß diese Gruppe der Pigmentbakterien Stämme von einer sehr verschiedenartigen ureumspaltenden Kraft enthält.

Die kräftigen Arten, welche weniger üppig auf neutralem Fleischagar oder Gelatine wachsen, kennzeichnen sich zugleich durch den Besitz tryptischer Enzyme.

§ 3. Ammonsalze organischer Säuren als Kohlenstoffquelle für Ureumspalter.

Ammonsalze organischer Säuren sind in Kulturböden, welche zugleich Ureum und organische Salze enthalten, die vorzüglichsten Ver-

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bindungen, um auf schnelle Weise kräftig spaltende Organismen zu erhalten.

Sowohl das gespaltene Ureum, wie auch das von dem oxydierten Salze freiwerdende Ammonkarbonat steigern die Alkalität der Flüssigkeit.

Vorläufige Proben erwiesen, daß mit einem Ureumgehalt von ± 5 Proz. die besten Ergebnisse erzielt werden; das Wachstum ist sehr gut, und in kurzer Zeit wird eine hohe Alkalität erreicht.

Auf ganz analoge Weise wie die Ammonsalze verhalten sich den Ureumspaltern gegenüber verschiedene Zuckerarten.

Eine Kulturflüssigkeit, welche besteht aus:

100	Leitungswasser
0,25	K_2HPO_4
1	Ammonmalat
5	Ureum

mit etwa 2 g Gartenerde oder Grabenwasser infiziert und bei 33° kultiviert, enthält nach 48, bisweilen schon nach 36 Stunden nur noch Ureumspalter.

In dieser kurzen Zeit ist eine vollständige Verdrängung aller anderen Organismen vor sich gegangen.

Die Spaltung des Ureums geschieht beim Vorhandensein leicht assimilierbarer Kohlenstoffquellen schneller, und die Alkalität wird gewöhnlich etwas höher.

Das Malat ist auch für diese Organismen wieder eine außerordentlich leicht assimilierbare Verbindung, wie dies im allgemeinen der Fall ist; hiernach folgen dann Laktat, Zitrat, Succinat, Tartrat, Butyrat, Acetat und Formiat.

Ist aber in einer Kultur mit einem dieser Salze das Endtiter erreicht, so werden im allgemeinen dieselben kräftigen Arten wahrgenommen in Malat- wie in Tatrat- und Acetatkulturen.

Beim Studium der Arten, welche einander in diesen Kulturflüssigkeiten folgen, zeigt es sich, daß bereits nach 2 Tagen, wenn der Titer etwa 60 ccm N pro 100 ccm Kulturflüssigkeit ist, eine große Verminderung der Mikrokokken und schmelzenden Bakterien stattgefunden hat. Während nun die Alkalität fortschreitet, nehmen die Sporenbildner ihren Platz ein neben einem kleinen, nicht sporenbildenden Ureumspalter.

Nach 3—4 Tagen sind nur kräftig hydrolisierende Mikroben übrig geblieben.

Das Wachstum auf neutraler Fleischgelatine ohne Ureum ist sehr schlecht oder gelingt überhaupt nicht.

Im allgemeinen kennzeichnen sich die Kolonieen dieser Bakterien auf Fleischgelatine 1 Proz. Ureum oder Malatgelatine 1 Proz. Ureum, 0,05 Proz. K_2HPO_4 durch ihre geringe Größe, indem ein Hof von Calciumphosphat- und Calciumkarbonatkristallen sie umgibt.

Nach 5 oder 6 Tagen ist der Titer bis zu dem Maximum ± 125 ccm N pro 100 ccm Kulturflüssigkeit gestiegen, so daß etwa 4 Proz. Ureum gespalten sind.

Die Gruppe der nun vorhandenen Mikroben besteht gewöhnlich aus 4 oder 5 Arten, und zwar dem Urobacillus Leubii (Beijerinck) und Urobacillus Maddoxii, Freudenreichii und Duclauxii (Miquel), oder Arten, welche diesen in allem sehr nahe stehen. Außerdem aber tritt eine noch nicht beschriebene Art, welche **Urobacillus Jakschii** genannt werden soll, auf.

Nach einigen Ueberimpfungen treten Urobacillus Maddoxii

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

und Duclauxii wie auch der Urobacillus Jakschii in den Vordergrund. Die beiden ersten bilden Sporen, Jakschii aber nicht.

Geht man von pasteurisiertem Material aus, so erhält man nur Urobacillus Maddoxii und Duclauxii.

Bei diesen Versuchen kam der Urobacillus Pasteurii nicht vor, und wir dürfen diesen zu den Bakterien rechnen, welche notwendig Eiweiß zu ihrem Wachstum nötig haben.

Beschreibung von Urobacillus Jakschii.

Der Urobacillus Jakschii ist ein sehr bewegliches Stäbchen in Kulturflüssigkeiten, welche nicht zu alkalisch sind; wenn aber einige Prozente Ureum gespalten sind, wird er unbeweglich.

Länge der Bakterie 5—7 μ.

Breite 1—1,5 μ.

Die Bakterie spaltet das Ureum beinahe ebenso kräftig wie der Urobacillus Duclauxii.

2 Proz. Ureum werden in Bouillon innerhalb 24 Stunden zersetzt.

Von 10 Proz. Ureum in Fleischwasser werden 6 Proz. bis 7 Proz. gespalten.

Auf neutraler Gelatine findet kein Wachstum statt, wird Ammonkarbonat zugefügt, so wächst der Bacillus zu sehr kleinen coliartigen Kolonieen, welche sich mit einem Hof von Kristallen umgeben und die Gelatine nach einem Monat syrupartig machen.

In Leitungswasser, anorganischen Salzen und 2 Proz. Ureum tritt mit folgenden Verbindungen nach Impfung ein gutes Wachstum ein: Pepton, Asparagin, Glukose, Rohrzucker, Maltose, Laktose, Salze der flüchtigen Fettsäuren und der mehrbasischen Säuren.

§ 4. Das Irisieren von Kulturplatten.

Das ureumspaltende Vermögen von Bakterien kann mit Hilfe der Hefewasser-Harnstoff-Gelatineplatten nach der Methode von Beijerinck auf besonders elegante Weise bestimmt werden durch die auf diesem Kulturboden durch die Bakterien hervorgerufene „Iriserscheinung“.

Vorausgesetzt war, daß das bei der Spaltung des Ureums freikommende Ammonkarbonat die Erscheinung verursacht, zufolge des Niederschlages von Calciumkarbonat und -phosphat.

Eine richtige Erklärung von dem Entstehen der Iriserscheinung auf dieser Platte zu geben, macht Schwierigkeiten, weil der Kulturboden zu kompliziert ist.

Beim Studium der Ureumspalter auf Kulturböden, welche aus Leitungswasser, 0,5 Proz. Calciummalat, 1 Proz. Ureum, 0,05 Proz. K_2HPO_4 und 10 Proz. Gelatine oder 1,5 Proz. Agar zusammengesetzt waren, trat die Iriserscheinung sehr oft auf.

Die Möglichkeit, einen einfachen Kulturboden von bekannter Zusammensetzung anzufertigen, welcher mittels Agar erstarrt ist und auf welchem die Iriserscheinung sehr schön auftreten soll, schien mir, die oben genannten Tatsachen in Betracht gezogen, nicht ausgeschlossen.

Auf diesem Wege wären die übereinstimmenden Erscheinungen auf der Hefewassergelatineplatte und das Irisieren von mehr komplizierten Platten im allgemeinen zu erklären.

Nachdem viele Versuche fehlgeschlagen waren, gelang es, auf folgende Weise einen Kulturboden anzufertigen, welcher den gestellten Forderungen ganz entsprach.

In Leitungswasseragar werden ± 0,5 Proz. Calciummalat oder -laktat und 0,05 Proz. Ammonzitrat gelöst. Der geschmolzene Agar wird zu dem gerade flüssigen Zustande abgekühlt und nun so lange eine K_2HPO_4-Lösung zugetröpfelt, bis eine schwache Opalisierung wahrnehmbar ist, sodann die Platte gegossen.

Diese Kulturplatte ist, wenn sorgfältig angefertigt, nahezu ganz klar. Das gebildete Calciumphosphat bleibt vom Ammonzitrat gelöst.

Ein Tröpfchen Ammonkarbonatlösung verursacht auf diesem Boden die Iriserscheinung, indem nach einigen Augenblicken ein Niederschlag rings um das Tröpfchen entsteht. Statt Agar kann man ebenso gut zur Erstarrung Gelatine benutzen.

Das irisierende Feld und das Präzipitat sind dem der Hefewassergelatine völlig identisch. Enthält der Kulturboden kein Phosphat, so gibt Ammonkarbonat darauf ein sehr geringes Feld von $CaCl_3$, ein Tröpfchen Ammoniak gar kein irisierendes Feld.

Ist aber nur Calciumphosphat, gelöst in Ammonzitrat, als einzige Calciumverbindung anwesend, so verursacht Ammonkarbonat und auch Ammoniak ein sehr schönes Feld.

Ureumspaltende Mikroben verursachen auf diesem Boden, mit 2 Proz. Ureum versehen, die Iriserscheinung.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß der Calciumphosphatniederschlag als die eigentliche Ursache betrachtet werden muß, indem zu gleicher Zeit gebildetes Calciumkarbonat eine untergeordnete Rolle spielt.

Fassen wir die Ergebnisse dieser Untersuchung zusammen, so ergibt sich, daß:

1) Ureumspaltung bei Abwesenheit von Eiweiß durch mehrere Gruppen von Mikroben hervorgerufen werden kann;

2) in Kulturen, in denen Ureumspaltung stattfindet, etwa 90 Proz. der Gesamtenergie durch die Spaltung des Ureums geliefert werden;

3) Kulturen mit Calciumsalzen von organischen Säuren sich recht gut dazu eignen, schwach spaltende Fermente zu bekommen; von diesen ist der Bacillus erythrogenes ausführlicher beschrieben;

4) sich in Kulturen mit Ammonsalzen organischer Säuren und Zuckerarten schnell kräftig ureumspaltende Sporenbildner und der nicht sporenbildende Urobacillus Jakschii anhäufen;

5) das Irisieren von Kulturplatten die Folge ist des Präzipitierens von Calciumphosphat, während zu gleicher Zeit gebildetes Calciumkarbonat eine untergeordnete Rolle spielt.

Am Schluß dieser Untersuchung sei es mir gestattet, meinem hochgeschätzten Lehrer, Prof. Dr. M. W. Beijerinck, meinen aufrichtigen Dank zu bezeugen für die vielen Ratschläge, welche ich bei diesen Untersuchungen erhalten habe.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Beteiligung gasbildender Bakterien beim Aufgehen des Sauerteigs.

Von Prof. Dr. **R. Burri** und Dr. **W. Holliger**
in Bern-Liebefeld. in Wettingen.

In einer früheren, größeren Arbeit hat der eine von uns (Holliger)[1]) die im gärenden Mehlteig auftretenden Organismen und ihre Funktion an Hand von Material, das aus Bäckereien und Bauernhöfen verschiedener Gegenden der Schweiz bezogen war, einer Untersuchung unterzogen und ist dabei zu folgenden Resultaten gekommen: Nur aus Wasser und Mehl geknetete Teige gären unter dem Einfluß von Bakterien, und zwar sind hier in der Regel 2 Arten tätig. Die eine ist identisch mit Bact. levans (Lehmann und Wolffin), während die andere, gelbe Kolonieen bildende, vorläufig als neu anzusehen ist (gelber Gasbildner). Bact. levans zeigt Aehnlichkeiten mit Bact. coli, ist aber mit diesem nicht identisch. Bei der Teiggärung, die durch Preßhefe oder Sauerteig eingeleitet wird, ist das Aufgehen einzig und allein auf die durch die Hefe bewirkte alkoholische Gärung, bezw. die dadurch erzeugte Kohlensäure zurückzuführen. Bakterien spielen hier keine Rolle. Die dem Teig durch Mehl und Wasser zugeführten zahlreichen Bakterien werden in kürzester Zeit durch die spezifischen Bakterien des Sauerteigs, welche kräftige Milchsäurebildner sind, unterdrückt, sofern sie nicht selber imstande sind, Säure zu bilden. Die Rolle der im Sauerteig oder Preßhefeteig vorhandenen Organismen kann folgendermaßen charakterisiert werden: Die Hefe allein ist das lockernde Agens und verhindert gleichzeitig die Entwickelung von Schimmelpilzen. Die Milchsäurebakterien wirken insofern konservierend, als sie keiner anderen Art aufzukommen gestatten und so schädliche Nebengärungen, wie sie z. B. durch Vertreter aus der Coli-Gruppe eingeleitet werden könnten, verhindern.

Diese Resultate wichen erheblich ab von den Anschauungen über das Wesen der Teiggärung, wie sie durch neuere, namentlich unter K. B. Lehmanns Leitung ausgeführte Arbeiten geschaffen worden waren.

Im besonderen hatte Wolffin[2]) für den Sauerteig eine gemeinschaftliche Tätigkeit von Hefen und gasbildenden Bakterien angenommen, obwohl die von ihm selbst und von früheren Autoren vorgenommenen Versuche über die Zusammensetzung der im Teig auftretenden Gärungsgase zum Schlusse drängten, daß nur die Hefe als lockerndes Agens zu betrachten sei. Wolffin war offenbar irregeführt durch die im Sauerteig massenhaft vorhandenen und mit Hilfe des Mikroskops leicht nachweisbaren stäbchenförmigen Bakterien, die er mit den aus den Teigen direkt und auf dem Umwege der Vorkultur isolierten Vertretern der Coli-Gruppe identifizierte. In der bereits erwähnten Arbeit konnten wir nämlich dartun, daß Wolffin die nichtgasbildenden, echten Milchsäurebakterien wohl im mikroskopischen Präparat gesehen, aber auf den ausschließlich benützten Plattenkulturen nicht bekommen hat, weil dieser Typus Neigung zu obligater Anaërobiose zeigt und nur mit Hilfe von besonderen, diesem Umstand Rechnung tragenden Verfahren zu isolieren ist. Unser Standpunkt gegenüber der Wolffinschen Arbeit war, was den Sauerteig anbelangt, wesentlich dadurch gekennzeichnet, daß wir einerseits auf die dem genannten Autor entgangenen kräftigen Säurebildner als auf die eigentlichen charakteristischen Bakterien des Sauerteigs hinweisen konnten, andererseits auf Grund unserer Versuche die Beteiligung von gasbildenden Bakterien aus der Coli-Gruppe an der Lockerung des Sauerteigs in Abrede stellen mußten.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. u. Par. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 305.

[2]) Wolffin, A., Bakt. und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung. Diss. Würzburg 1894.

Auf K. B. Lehmanns Veranlassung hat vor wenigen Jahren F. Levy[1]) die Frage nach den bei der Teiggärung beteiligten Organismen nochmals einer eingehenden Prüfung unterzogen und ist dabei zu Ergebnissen gelangt, welche zum Teil in Uebereinstimmung mit unseren Befunden sind, zum Teil aber mit diesen im Widerspruch stehen und eher auf eine Bestätigung der früher von Wolffin gemachten Erhebungen hinauszulaufen scheinen. In Uebereinstimmung mit uns hat Levy unter Heranziehung anaërober Züchtungsverfahren die Vertreter der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien auch in den von ihm untersuchten Würzburger Sauerteigen feststellen können. Im Gegensatz zu uns findet Levy, daß seine Sauerteige relativ häufig neben Hefe und Säurestäbchen auch gasbildende Bakterien aus der Gruppe des Bact. coli enthalten, „welche bei der praktischen Teiglockerung durch Sauerteig in Ausnahmefällen mitwirken dürften“. Levy hat diese Feststellungen nicht, wie seinerzeit Wolffin, mit Hilfe von Anreicherungskulturen gemacht, sondern ebenso wie wir auf dem Wege direkter Plattenaussaaten. Die betreffenden Versuche veranlassen Levy zu folgender Aeußerung: „Es scheint demnach, als ob der in Würzburg übliche Sauerteig bezüglich seines Gehaltes an Hefe einerseits und gasbildenden Bakterien anderseits in der Tat nicht ganz dem der Schweizer Bäckereien und Bauernhöfe entspreche, welche Vermutung Wolffin bereits gegenüber den Dünnenbergerschen[2]) Angaben ausgesprochen hat.“ Und an anderer Stelle: „Dieser (der Schweizer Sauerteig) stellt eine hefereiche und spaltpilzarme, jener (der Würzburger Sauerteig) mindestens in manchen Fällen eine hefearme und bakterienreiche Mischung dar.“ Zu dieser im letzten Satze enthaltenen Charakterisierung möchten wir die Bemerkung machen, daß alle von uns seinerzeit untersuchten Schweizer Sauerteige Bakterien immerhin in einer Zahl enthielten, die ein Vielfaches der Hefezellen betrug, so daß von einer spaltpilzarmen Mischung jedenfalls nur in bedingtem Sinne gesprochen werden kann. Im übrigen haben wir aus den von Levy erbrachten Belegen ebenfalls den Eindruck gewonnen, daß gewisse Verschiedenheiten zwischen dem von uns und dem von den Würzburger Forschern bearbeiteten Teigmaterial bestehen müssen. Es schien uns daher von Interesse, einige Sauerteigproben ausländischen Ursprungs zu untersuchen und ihr Verhalten mit den bisherigen beiderseitigen Ergebnissen zu vergleichen.

Es war uns möglich, Sauerteige aus Südspanien, Ostpreußen und Mähren zu verarbeiten. Den Herren Dr. Ankersmit in Malaga, Prof. Dr. Stutzer in Königsberg und Direktor Liska in Kremsier, welche uns das Material vermittelten, sprechen wir auch an dieser Stelle für ihre Bemühungen unseren verbindlichen Dank aus.

Zum Teil sind die Proben in stark ausgetrocknetem Zustand in unsere Hände gekommen und mußten, um eine gehörige Zerkleinerung zu ermöglichen, vor der Benutzung während mehreren Tagen in einer

---

1) Arch. f. Hyg. Bd. IL. p. 62.

2) Dünnenberger, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über die beim Aufgehen des Sauerteiges wirkenden Ursachen. Diss. Zürich 1888.

feuchten Kammer aufbewahrt werden. Hier erreichten sie dank ihrer Hygroskopizität wieder einen gewissen Feuchtigkeitsgrad. Diese Vorbehandlung war notwendig, weil Vermehrungsteige, die einen Zusatz von ausgetrocknetem, hartem Sauerteig bekommen hatten, nie normal in Gärung gerieten.

Nur wenige der Proben sind direkt verarbeitet worden, indem wir uns durch Zerreiben einer Oese voll Teig in sterilem Wasser eine Emulsion bereiteten und damit in verschiedenen Verdünnungen Gelatineplatten anlegten. Das Hauptgewicht legten wir auf die Untersuchung frisch vermehrter Teige im Anfang und auf dem Höhepunkt der Gärung. Das hierbei zu gewinnende Bild über Entwickelung und Zusammensetzung der Mikroflora schien uns am ehesten geeignet, über die Frage nach den beim Aufgehen des Teiges beteiligten Mikroorganismen Aufschluß zu geben.

Zur Herstellung der als Versuchsteige dienenden Vermehrungsteige wurde von den Originalproben eine kleine Menge mit Mehl und Wasser tüchtig geknetet. Auf je 60 gr Mehl nahmen wir, entsprechend den in der Praxis üblichen Verhältnissen, 2—3 g Sauerteig. Der so erhaltene Vermehrungsteig blieb zugedeckt bei Zimmertemperatur stehen und von Zeit zu Zeit wurde mittels steriler Platinöse aus dem Innern Material für die Verarbeitung entnommen. Wie schon aus den einleitenden Erörterungen zu entnehmen ist, handelte es sich der Hauptsache nach um den Nachweis gasbildender Bakterien aus der Coli-Gruppe und im besonderen um deren quantitatives Verhältnis zur Hefe. Diesem Zwecke dienten gewöhnliche Gelatineplattenkulturen[1]) in vorzüglicher Weise, denn nicht nur gedeihen auf solchen die uns interessierenden Organismen recht gut, sondern es wurden die vorherrschenden Bewohner des Sauerteigs, die echten Milchsäurebakterien, auf deren Feststellung wir hier keinen Wert legten, infolge des ausgiebigen Luftzutrittes und der Zuckerarmut des Nährbodens mehr oder weniger an der Entwickelung verhindert.

Im folgenden sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammengestellt.

Sauerteig I (aus Bäckerei in Kremsier, Mähren).

A. Originalprobe: Die Gelatineplatten liefern sozusagen eine Reinkultur von Hefe.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Auf den Gelatineplatten vorwiegend Hefen, auf der ersten Verdünnung auch etwa 10 gelbliche, etwas Coli-ähnliche Kolonieen, von denen die Mehrzahl Dextrose in Agar-Schüttelkulturen nur Säure, vereinzelte auch Gas erzeugen.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Nicht untersucht.

D. Derselbe in voller Gärung: Reinkultur von Hefen.

Sauerteig II (aus Bauernhaus in Jarohňowitz, Mähren).

A. Originalprobe: Gelatineplatten ergeben anscheinend eine Reinkultur von Hefe. Zwischen den Hefekolonieen feinste punktförmige Kolonieen eingestreut. Die letztern kommen in D.-Agar-h.-Schicht besser zur Geltung; es sind die eigentlichen Sauerteigstäbchen, die sich mitunter, durch besondere Umstände, wie z. B. durch Hefewachstum begünstigt, auch auf Platten einstellen können.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Auf den Gelatineplatten vorwiegend Hefen, auf der Platte stärkster Besetzung auch etwa 20 gelbliche Kolonieen eines Kurzstäbchens, unter denen sich einige zur Gasbildung auf Dextroseagar befähigt erweisen. Auch vereinzelte verflüssigende Kolonieen, wahrscheinlich Sporenbildnern angehörend.

---

[1]) Die benutzte gewöhnliche Fleischwasserpeptongelatine war bis zur schwachen Bräunung von Curcumapapier mit Natronlauge versetzt, reagierte demnach gegenüber Lackmus kräftig alkalisch, wenn auch nicht in dem Grade, wie eine auf den Phenolphtalein-Neutralisationspunkt eingestellte Gelatine. Von einer Begünstigung der im allgemeinen säureliebenden Hefe auf Kosten der Vertreter aus der Coli-Gruppe kann bei diesem Nährboden jedenfalls nicht gesprochen werden.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Hefe bei weitem vorherrschend, aber auch die gelben Kolonieen sind noch vorhanden (15 auf Tausende von Hefekolonieen), unter ihnen die wenigsten zur Gasbildung befähigt.

D. Derselbe in voller Gärung: Neben Hefen und echten, nichtgasbildenden Milchsäurebakterien eine einzige ausgebreitete Bakterienkolonie, die aber keinem Gasbildner angehört.

Sauerteig III (aus Malaga, Spanien).

A. Originalprobe: Alle 3 Verdünnungen der Gelatineplatten ergeben nur Hefe mit Ausnahme der dichtest besetzten Platte, wo eine Kolonie eines beweglichen Langstäbchens zu finden war.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Neben vorherrschenden Hefen auch in beträchtlicher Zahl Bakterienkolonieen von verschiedenem Typus, unter welchen Coli-ähnliche allerdings fehlen. Eine Oberflächenkolonie, die eventuell dem gelben Gasbildner angehören konnte, lieferte in der Tat, wenn auch wenig, Gas.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Die dichtest besetzte Platte ist durch Fluorescens und Langstäbchen vorzeitig verflüssigt, die anderen sind steril.

D. Derselbe in voller Gärung: Die Platten zeigen nur Hefen und eigentliche Sauerteigstäbchen.

Sauerteig IV (aus Colmenares, Südspanien).

A. Originalprobe: Neben Tausenden von Hefekolonieen $^1/_2$ Dutzend Bakterienkolonieen, worunter keine dem Coli-Typus angehörende.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Auf 60 Hefekolonieen einige langsam verflüssigende, fadenziehende Bakterienkolonieen, keine Coliähnliche.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Auf ca. 100 Hefekolonieen noch 3 der fadenziehenden Bakterienkolonieen.

D. Derselbe in voller Gärung: Auf allen Platten Hefe sozusagen in Reinkultur.

Sauerteig V (aus Bilau, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Vorherrschend Hefe, daneben auch Fluoreszenten und einige andere Bakterienkolonieen, jedoch keine Coliähnlichen.

D. Derselbe in voller Gärung: Hefen sehr zahlreich, daneben eine einzige, nicht Coli-ähnliche Bakterienkolonie, auch einige Schimmelkolonieen.

Sauerteig VI (aus Bilau, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Auf Tausende von Hefekolonieen entfallen 10 tröpfchenähnliche gelbliche Kolonieen, die aber nur Säure, kein Gas bilden.

D. Derselbe in voller Gärung: Auf der dichtesten Platte nur Hefen- und Schimmelpilze, auf der 2. Verdünnung immer noch 500 Hefekolonieen, daneben eine Schimmelkolonie und eine Kolonie eines großen, wahrscheinlich sporenbildenden Stäbchens.

Sauerteig VII (aus Bezmirau, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Neben Tausenden von Hefekolonieen ca. 30 gelbliche tröpfchenartige Kolonieen eines Kurzstäbchens, das sich indessen nicht als Gasbildner, sondern als Säurebildner erweist.

D. Derselbe in voller Gärung: Massenhaft Hefe neben vereinzelten Schimmelkolonieen.

Sauerteig VIII (aus Skaschtitz, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Auf ca. 100 Hefekolonieen entfallen einige Bakterienkolonieen, die einem säurebildenden Kurzstäbchen angehören und dadurch ausgezeichnet sind, daß sich auf Gelatineplatten um die Kolonie herum in einiger Entfernung von dieser eine auffallend trübe Zone, ein Hof, bildet.

D. Derselbe in voller Gärung: Neben vielen Tausenden von Hefekolonieen nur einige Schimmel, keine einzige Bakterienkolonie.

Sauerteig IX (aus Bezmirau, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Auf Tausende von Hefen ca. 20 Kolonieen von Fluorescens und 20—30 gelbe Kolonieen des bei Probe VIII erwähnten Säurebildners.

D. Derselbe in voller Gärung: Reinkultur von Hefe, daneben vereinzelte Schimmelkolonieen.

Sauerteig X (aus Zlobitz, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Die dichtest besetzte Gelatineplatte ist stark getrübt durch die schon in den vorhergehenden Proben genannten hofbildenden Säurebildner. Weitaus vorherrschend sind aber immerhin die Hefen, wie die 2. Verdünnung zeigt, welche auf 300 Hefekolonieen keine Bakterienkolonieen erkennen ließ.

D. Derselbe in voller Gärung: Reinkultur von Hefe.

Sauerteig XI (aus Mimirock, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Weitaus vorwiegend Hefekolonieen, daneben auch vereinzelte Schimmelpilze und Kolonieen des bei den vorigen Proben erwähnten gelben Säurebildners. Die 2. Platte enthielt auf 500 Hefekolonieen keine Bakterienkolonie.

D. Derselbe in voller Gärung: Reinkultur von Hefe.

Sauerteig XII (aus Postonopek, Mähren).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Unter Tausenden von Hefekolonieen 4 Kolonieen des erwähnten gelben Säurebildners.

D. Derselbe in voller Gärung: Die gelben Säurebildner sind auch hier neben den Hefen noch vorhanden, doch entfallen auf eine Bakterienkolonie mindestens 1000 Hefekolonieen.

Sauerteig XIII (aus Bauernhof im Kanton Aargau, Schweiz).

Die Untersuchung dieses Teiges wurde eingeschaltet, um beim Vergleich der ausländischen Teige mit schweizerischen nicht nur auf unsere früheren Befunde abstellen zu müssen. Originalprobe und Vermehrungsteig verhielten sich normal, d. h. die Platten machten sowohl unmittelbar nach dem Kneten wie auch während und auf der Höhe der Gärung den Eindruck von Hefereinkulturen, ein Befund, der den früher erhobenen vollständig entsprach.

Sauerteig XIV (aus Bäckerei in Königsberg, Preußen).

A. Originalprobe: Hefen weitaus überwiegend, z. B. entfallen bei der dichtest besetzten Platte auf Tausende von Hefenkolonieen einige Schimmel, 2 große, rasch verflüssigende Kolonieen eines dicken Stäbchens, einige Vertreter der Gattung Streptothrix und ein Microccoccus; Gasbildner sind nicht vorhanden.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Auf der ersten Platte findet durch Fluorescens rasch Verflüssigung statt. Unter ca. 100 meist aus Hefen bestehenden Kolonieen der zweiten Platte finden sich 5 braungelbe, lappige Bakterienkolonieen, einem relativ großen Kurzstäbchen angehörend. Prüfungen auf Gasentwickelungsvermögen in Dextroseagar-Schüttelkulturen ergaben unbestimmte Resultate. Vielleicht handelte es sich hier um abgeschwächte Gärungserreger.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Hefen durchaus vorherrschend; auf 100 Hefenkolonieen eine schnell verflüssigende Bakterienkolonie und eine den vorigen ähnliche braungelbe, die in Dextroseagar kein Gas bilden kann.

D. Derselbe in voller Gärung: Anscheinend Reinkultur der Hefe; auf der ersten Platte viele Tausende von Hefekolonieen.

Sauerteig XV (aus Bäckerei in Königsberg, Preußen).

A. Originalprobe: Auf der dichtest besetzten Platte neben Hefen einige Schimmel und vereinzelte verflüssigende aus Langstäbchen bestehende Bakterienkolonieen. Hefen jedoch weitaus vorherrschend, wie die 2. Verdünnung zeigt, wo über 1000 Kolonieen anscheinend eine Reinkultur der Hefe darstellen.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Hefenkolonieen vorherrschend; auf einige Tausende von diesen kommen immerhin auch ca. 200 Bakterienkolonieen, von denen die Mehrzahl aus beweglichen Stäbchen bestehen, welche den in Sauerteig VII—XII gefundenen gelben Säurebildnern nahe zu stehen scheinen. Unter anderen zeigen die Kolonieen auf Gelatineplatten auch die charakteristische Hofbildung. Der hier vorliegende Organismus ist jedoch im Gegensatz zu jenen ein kräftiger Gasbildner.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Auf viele Tausende von Hefekolonieen entfallen immer noch etwa 100 Bakterienkolonieen, welche dem soeben erwähnten Gasbildner angehören. Indessen dürften die letzteren, wie aus der 2. Verdünnung zu schließen ist, kaum 1 Proz. der Hefezahl ausmachen.

D. Derselbe in voller Gärung: Die Platten 1. und 2. Verdünnung sind dicht besetzt und scheinen Reinkulturen der Hefe zu sein.

Sauerteig XVI (aus Bauernhaus bei Königsberg).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Hefen vorherrschend, aber auf der dichtest besetzten Platte auch etwa 40 verflüssigende und gegen 100 Kolonieen des gelben, hofbildenden Gasbildners vorhanden. Die zweite Platte mit ca. 100 Kolonieen stellt eine Reinkultur der Hefe dar.

D. Derselbe in voller Gärung: Auf der sehr dicht besetzten Platte in der 1. Verdünnung finden sich neben Hefen nur 5 verflüssigende, einem Langstäbchen angehörende Kolonieen. Die zweite Platte enthält neben 100 Hefekolonieen eine verflüssigende Bakterienkolonie.

Sauerteig XVII (aus Bauernhaus bei Königsberg).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Aehnliches Bild wie bei den entsprechenden Platten von Probe XVI. Bei der 2. Verdünnung findet sich neben 400—500 Hefekolonieen kein dem gelben Gasbildner entsprechendes Stäbchen mehr.

D. Derselbe in voller Gärung: Neben Tausenden von Hefekolonieen finden sich auf der ersten Platte nur noch einige Kolonieen, welche dem bei Probe XV und XVI erwähnten Gasbildner zu entsprechen schienen. Doch verlief die zur Sicherung dieser Annahme vorgenommene Prüfung negativ. Auf der ebenfalls (mit Hefe) dicht besetzten zweiten Platte fehlen solche Kolonieen ganz; hingegen sind hier zwischen den Hefekolonieen die eigentlichen „Sauerteigstäbchen“ deutlich zu erkennen.

Sauerteig XVIII (aus Bauernhaus bei Königsberg).

A. Originalprobe: Nicht untersucht.

B. Vermehrungsteig unmittelbar nach dem Kneten: Nicht untersucht.

C. Derselbe 2—4 Stunden nach dem Kneten: Neben vielen Tausenden von Hefekolonieen etwa 200 jener gelben, umhöften Kolonieen, welche dem schon erwähnten Kurzstäbchen angehören. Die Erwartung, daß in Dextroseagar-Schüttelkulturen durch diesen Organismus Gas gebildet würde, wie dies bei den „gelben“ aus Probe XV der Fall war, bestätigte sich nicht, obwohl mehrere Stämme der Prüfung unterzogen wurden.

D. Derselbe in voller Gärung: Auf der ersten Platte neben 6000 Kolonieen der Hefe noch je eine Kolonie eines sporenbildenden Stäbchens, eines Micrococcus und einer Streptothrix. Die zweite Platte mit gegen 1000 Kolonieen ist eine Reinkultur der Hefe.

Vergleichen wir diese an den ausländischen Sauerteigen gemachten Befunde mit unseren früheren bei Sauerteigen schweizerischer Herkunft erhaltenen Resultaten, so kommen wir zum Schlusse, daß die Uebereinstimmung nur eine annähernde, nicht eine vollständige ist. Was uns bei der vorliegenden Versuchsserie namentlich auffällt, ist das verhältnismäßig häufige Auftreten von gelben, aus Kurzstäbchen bestehenden Kolonieen in den Teigen unmittelbar oder 2—4 Stunden nach ihrer Herstellung. Die Unterdrückung sozusagen aller Bakterien mit Ausnahme der echten Milchsäurebakterien macht sich also hier nicht mit so auffallender Schärfe geltend, wie wir dies früher feststellen konnten und wie es die Untersuchung des zum Vergleich herangezogenen Sauerteigs No. XIII wiederum bestätigte. Immerhin war auch bei den vorliegenden Versuchen das Verhältnis der Bakterien zu den Hefen durchwegs derart, daß am Anfang, d. h. vor der Gärung, die Zahl der Bakterien in den günstigsten Fällen einige Prozent der Hefezahl betrug, während auf dem Höhepunkt der Gärung die Hefe in Reinkulturen vorhanden oder nur von einer verschwindend kleinen Zahl von Bakterien begleitet war.

Was die Natur dieser gelbe Kolonieen bildenden Stäbchen betrifft, so scheinen sie zum Teil dem von uns früher beschriebenen „gelben“ Gasbildner, zum Teil einem von Levy unter dem Namen „gelber“ Säurebildner beschriebenen Organismus nahe zu stehen. Unsere Befunde deuten darauf hin, daß gewisse Vertreter der „gelben“ Kurzstäbchen bald mit, bald ohne Gasentwickelung auftreten können und auch Levy hat schon die Ansicht ausgesprochen, daß die Gasbildung bei den „gelben“ Gasbildnern eine labile Funktion zu sein scheine. Soweit bei den vorliegenden Versuchen überhaupt das Vorkommen von gasbildenden Bakterien festgestellt werden konnte, handelte es sich um Kolonieen, die quantitativ gegenüber der Hefe dermaßen zurückstanden, daß an eine Beteiligung bei der Lockerung des Teiges nicht gedacht werden kann. Wir verzichten vorläufig darauf, auf unsere mit Vertretern der „Gelben“ aus Teig ausgeführten Versuche näher einzutreten und möchten nur darauf hinweisen, daß diese Gruppe zweifellos ein dankbares Objekt für Variabilitätsstudien bilden würde.

Wenn die von uns untersuchten ausländischen Sauerteige sich in ihrem Verhalten im Grunde nur wenig von den Schweizer Sauerteigen entfernen, indem nur vereinzelte die Anwesenheit von gasbildenden Kurzstäbchen, und zwar in sehr geringer Zahl erkennen ließen, so ist ihr Abstand von den Würzburger Teigen um so größer. Levy hat in 8 von 14 Teigen bei direkten Plattenaussaaten fakultativ anaërobe Gasbildner festgestellt und „es übertrafen sogar davon 4mal in den offenbar sehr hefearmen Sauerteigen ihre Kolonieen diejenigen der Sproßpilze an Zahl, welche in einem Fall überhaupt nicht auf den Platten auftraten“. Ein solches oder auch nur ein ähnliches Verhalten hat nun keiner unserer 17 ausländischen Sauerteige gezeigt und wir gelangen so zu dem Ergebnis, daß sich die Würzburger Sauerteige zum Teil nicht nur von den Schweizer Sauerteigen, sondern auch von Sauerteigen aus verschiedenen anderen Teilen Europas erheblich unterscheiden; mit anderen Worten: gewisse Würzburger Sauerteige nehmen eine Ausnahmestellung ein, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die charakteristischen Mikroorganismen des durchschnittlichen Sauerteigtypus, nämlich die Hefen und die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, in geringer Zahl und anscheinend auch in wenig wirksamer Form enthalten.

Wie die Gärung des Mostes, die Gärung der Brennereimaische, die Reifung des Käsereilabes und des Käses selbst, die Rahmreifung usw. zusammengesetzte Prozesse darstellen, die nach Verlauf und Endergebnis gewissen Schwankungen unterworfen sind, so macht sich auch bei der Sauerteiggärung unter Umständen eine gewisse Unsicherheit, eine Neigung zum abnormalen Verlauf der beteiligten Einzelvorgänge geltend. Während bei den Sauerteigen der Schweiz, soweit unsere Erhebungen reichen, der Typus der Sauerteiggärung offenbar mit großer Regelmäßigkeit rein zum Ausdruck gelangt und auch für drei andere, sehr weit auseinanderliegende Gegenden Europas nicht wesentliche Abweichungen zeigt, scheint in Würzburg eine Art der Sauerteiggärung nicht selten zu sein, die, wenn nicht als entartet, zum mindesten als abnormal bezeichnet werden darf.

Bern-Liebefeld und Wettingen, im Dezember 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber die Selbsterhitzung des Heues.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der Landwirtschaftl. Versuchsstation Hoorn in Holland.]

Von **F. W. J. Boekhout** und **J. J. Ott de Vries.**

In unserer letzten Abhandlung über dieses Thema (diese Zeitschrift. Abt. II. Bd. XXI. p. 398) wurden die Versuche mitgeteilt, welche zeigten, daß die Selbsterhitzung des Heues durch Einwirkung des Sauerstoffes der Luft auf das getrocknete Gras entsteht.

Zur Ausschaltung aller Bakterien- und Enzymtätigkeit wählten wir als Erhitzungstemperatur die des kochenden Wassers, also etwa 100° C. Infolgedessen wurden freilich alle organisierten Stoffe außer Tätigkeit gesetzt, aber zugleich schufen wir einen Wärmegrad, welcher an und für sich bei der Oxydation Berücksichtigung nötig machte.

Es versteht sich, daß die Einwirkung bei einer mehr herabgesetzten Temperatur nicht so schnell von statten geht; aber die Möglichkeit war nicht ausgeschlossen, daß weit unter 100° C die direkte Verbindung der organischen Stoffe mit dem Sauerstoffe nicht mehr zustande kommen würde.

Zur Untersuchung, inwiefern diese Reaktion bei niedrigem Wärmegrade stattfindet, wurden Glasröhren, enthaltend in vacuo getrocknetes Gras, mit Luft oder Sauerstoff gefüllt, entweder mit oder ohne Wasserzusatz, in gleicher Weise, wie früher beschrieben. Die Röhren wurden während einiger Tage in einen Thermostaten bei 33° C gestellt.

Jedes Bakterienwachstum sollte ausgeschlossen sein, und deswegen wurden die Röhren mit angefeuchtetem Inhalt vor der Füllung mit Sauerstoff oder atmosphärischer Luft luftleer gemacht und sterilisiert. Nachher wurde das Gas zugelassen, nachdem es zwei Waschflaschen, eine mit Wasser und eine mit Natronlauge, passiert hatte und filtriert worden war durch einen Wattepfropfen in einem der ausgezogenen Rohrenden. Das Sterilisieren war für die trockenen Röhren nicht notwendig, weil der Wassergehalt in denselben so gering ist, daß die Mikroorganismen sich darin nicht entwickeln können. Nachdem die so behandelten Röhren einige Zeit auf 33° C erhitzt worden waren, fand die Oeffnung und die Analyse des Gases statt, indem der Inhalt bestimmt wurde durch Wägung vor dem Oeffnen und nachdem das Rohr mit Wasser gefüllt war, welches zur Verdrängung des Gases bei der Analyse diente. Untenstehend folgen die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse

Rohr I, präpariert am 12. Okt. 1908, enthält 4 g in vacuo getrocknetes Gras, angefeuchtet mit 6 ccm Wasser und ist gefüllt mit Luft. Geöffnet am 28. Okt. 1908.

Volumen des Gases	74,2 ccm
Nach Absorption in KOH	70,2 „
Also Kohlensäure	4,0 ccm

Ein ähnliches Rohr vom 12. Okt. 1908 ohne Wasserzusatz gab das Folgende:

Volumen des vorrätigen Gases	71,4 ccm
Nach Absorption in KOH	70,6 „
Also CO_2	0,8 ccm

Rohr II, präpariert am 15. Okt. 1908, gefüllt mit Sauerstoff und 4 g in vacuo getrockneten Heues und 6 g Wasser. Oeffnung am 28. Okt. 1908.

Volumen des anwesenden Gases	78,1 ccm
Nach Absorption in KOH	73,8 „
Also CO_2	4,3 ccm

Ein derartiges Rohr IIa vom 15. Okt., in welchem Wasserzusatz nicht stattfand, gab am 28. Okt. das Folgende:

Volumen des anwesenden Gases	92,4 ccm
Nach Absorption in KOH	92,2 „
Also CO_2	0,2 ccm

Rohr III, präpariert am 14. Okt. 1908, gefüllt mit 4 g in vacuo getrockneten Grases, 6 g Wasser und Luft. Geöffnet am 11. Nov. 1908.

Volumen des Gases	60,1 ccm
Nach Absorption in KOH	54,7 „
CO_2	5,4 ccm

Ein ähnliches Rohr IIIa, vom 12. Okt. 1908, in welchem das Wasser fehlte, gab am 11. Nov. das Folgende:

Volumen des Gases	62,8 ccm
Nach Absorption in KOH	60,8 „
Kohlensäure	2,0 ccm

Rohr IV, präpariert am 15. Okt. 1908, gefüllt mit 4 g in vacuo getrockneten Grases, 6 ccm Wasser und Sauerstoff. Geöffnet am 12. Nov. 1908.

Gewicht des Rohres, mit Wasser angefüllt	194,5 g
Gewicht des Rohres	100,6 „
Gewicht des Wassers	93,9 g
Also Inhalt etwa 93,9 ccm	
Volumen des vorhandenen Gases	81,2 ccm
Nach Absorption in KOH	76,0 „
Also Kohlensäure	5,2 ccm

Ein ähnliches Rohr IVa, vom 15. Okt., in welchem das Wasser fehlte, gab am 12. Nov. das Folgende:

Gewicht des Rohres, gefüllt mit Wasser	172,0 g
Gewicht des Rohres	98,5 „
Gewicht des Wassers	73,5 g
Also Rohrinhalt ± 73,5 ccm	
Volumen des vorhandenen Gases	68,8 ccm
Nach Absorption in KOH	68,0 „
Also CO_2	0,8 ccm

Rohr V, präpariert am 12. Okt. 1908, gefüllt mit 4 g in vacuo getrocknetem Grase, 6 ccm Wasser und Luft. Geöffnet am 24. Nov. 1908.

Gewicht des Rohres mit Wasser	176,0 g
Gewicht des Rohres	80,0 „
Gewicht des Wassers	96,0 g
Also Inhalt ± 96,0 ccm	
Volumen des vorhandenen Gases	83,8 ccm
Nach Absorption in KOH	77,0 „
Also CO_2	6,8 ccm

Ein ähnliches Rohr Va, vom 12. Nov. 1908, in welchem das Wasser fehlte, gab am 24. Nov. folgendes:

Gewicht des Rohres mit Wasser	155,5 g
Gewicht des Rohres	68,0 „
Gewicht des Wassers	87,5 g
Also Inhalt ± 87,5	
Volumen des vorhandenes Gases	83,8 ccm
Nach Absorption in KOH	81,4 „
Also CO_2	2,4 ccm

Rohr VI, präpariert am 15. Okt. 1908, wurde gefüllt mit 4 g in vacuo getrocknetem Grase, 6 ccm Wasser und Sauerstoff. Oeffnung am 25. Nov. 1908.

Gewicht des Rohres mit Wasser	170,5 g
Gewicht des Rohres	89,0 „
Gewicht des Wassers	81,5 g
Also Inhalt ± 81,5 ccm	
Volumen des anwesenden Gases	67,2 ccm
Nach Absorption in KOH	60,5 „
Also CO_2	6,7 ccm

Ein derartiges Rohr VIa, vom 15. Okt. 1908, in welchem das Wasser fehlte, gab am 25. Nov. folgendes:

Gewicht des Rohres mit Wasser	194,0 g
Gewicht des Rohres	108,5 „
Gewicht des Wassers	85,5 g

Volumen des vorhandenen Gases	81,5 ccm
Nach Absorption in KOH	80,9 „
Also CO_2	0,6 ccm

Untenstehende Tabellen geben die kurze Zusammenfassung der durch obige Untersuchungen erhaltenen Zahlen:

4 g im Vakuum getrocknetes Gras liefern:

nach	mit Luft	mit Luft und Wasser	mit Sauerstoff	mit Sauerstoff und Wasser
13 Tagen			0,2 CO_2	4,3 CO_2
16 „	0,8 CO_2	4,0 CO_2		
28 „	2,0 „	5,4 „	0,8 „	5,2 „
41 „			0,6 „	6,7 „
43 „	2,4 „	6,8 „		

4 g im Vakuum getrocknetes Gras absorbieren:

nach	mit Luft	mit Luft und Wasser	mit Sauerstoff	mit Sauerstoff und Wasser
28 Tagen			4,7 ccm	12,7 ccm
41 „			4,0 „	14,3 „
43 „	3,7	12,2		

Aus beiden Tabellen geht hervor:

1) daß auch bei einer Temperatur weit unter 100° C Sauerstoff oxydierend einwirkt auf Heu, wenn auch in weniger starkem Maße;

2) daß unter diesen Umständen gleichfalls Sauerstoff festgelegt und Kohlensäure produziert wird;

3) daß der Einfluß des Wassers auf den Oxydationsprozeß sehr bedeutend ist, sowohl hinsichtlich der Kohlensäureproduktion, wie in bezug auf die Sauerstoffbindung.

Weiter sei darauf aufmerksam gemacht, daß geradezu kein Unterschied besteht zwischen der Einwirkung der Luft und des Sauerstoffes. Die Anwesenheit einer Mischung von Sauerstoff und Stickstoff oder ausschließlich des ersten Gases hat offenbar keinen Einfluß auf die Intensität der Oxydation. Im trockenen Zustande des Grases produziert die Luft sogar mehr Kohlensäure als der Sauerstoff.

Kurz zusammengefaßt, kommen wir zu dem Schlußergebnis, daß die Selbsterhitzung des Heues vom Anfang an entsteht durch Oxydation, und daß diese Oxydation wächst mit der Erhöhung der Temperatur, während die Anwesenheit des Wassers der Reaktion förderlich ist.

Nachdruck verboten.

Ueber das Auftreten der Mayetiola destructor Say (Hessenfliege) im Jahre 1908, nebst Bemerkungen über Larve, Puppenhülle und Imago.

[Abteilung für Pflanzenkrankheiten am Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg.]

Von Dr. **Max Wolff.**

Ende Juni vorigen Sommers gingen mir verschiedene Proben von kümmerlich entwickelten Getreidepflanzen zu, die sich bei der genaueren Untersuchung als von Getreidefliegen befallen erwiesen. Die Tönnchenpuppen der Parasiten saßen sowohl bei dem Sommergetreide, wie beim Wintergetreide hinter der Blattscheide, die das unterste Internodium einhüllt, und hatten zu einem Teil das typische Aussehen der Puppenhülle von Oscinis frit L. Einige Tage später schlüpften denn auch junge Fritfliegen aus. Aber ein anderer Teil der aufgefundenen Puppenhüllen zeigte sich in Färbung und morphologischem Verhalten ganz abweichend beschaffen. Diese Puppenhüllen waren viel dunkler gefärbt, von weniger regelmäßiger Form und erheblich größerem Variieren des Längenmaßes. Außerdem war auffällig, daß diese Tönnchenpuppen im Gegensatze zu denen der Fritfliegen stets in kleineren oder größeren Gruppen dicht gedrängt beieinander lagen, zu dreien oder vieren, einigemal aber auch zu nicht weniger als 8 Stück. Dabei war die Halmscheide an solchen Stellen noch nicht einmal sonderlich angeschwollen, sondern das Halmgewebe war mehr oder weniger infolge von Besiedelung mit Fäulnisorganismen angefault und eingedrückt. In einigen Fällen lagen die Tönnchen sogar im Lumen des Halmes selbst, was ich übrigens gelegentlich auch an Halmen beobachtete, die nur von der Fritfliege befallen waren.

Im ganzen war es jedenfalls klar, daß ich es hier mit einer besonderen Art von Getreidefliegen zu tun hatte. Bezüglich der Speciesbestimmung hatte ich von vornherein nur an Mayetiola destructor Say gedacht. Stutzig in der Determination machte mich nur die Größe der Puppenhüllen. So schwankte ich denn aus begreiflichen Gründen, ein bindendes Urteil abzugeben. Die zuverlässige, zoologisch einwandfreie Feststellung des Auftretens der Hessenfliege in Deutschland überhaupt, speziell im Osten der preußischen Monarchie, scheint mir aber von zweifelloser Wichtigkeit zu sein, angesichts der Tatsache, daß kein geringerer als Frank in seinem „Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte", Berlin 1897, ausdrücklich angibt, daß die Hessenfliege seit 1896 in Deutschland so gut wie verschwunden ist. Bei der Wichtigkeit des Schädlings sollte man doch nun zweifellos erwarten, daß eine während der späteren Jahre von zoologischer Seite erfolgte erneute Feststellung über das Vorkommen des Tieres an irgend einer Stelle in der wissenschaftlichen Literatur veröffentlicht worden wäre. Dem betreffenden Zoologen wären dann auch zweifellos die weiter unten zu besprechenden Fehler in der Beschreibung des Schädlings aufgefallen. Ich denke, daß mir bei der Durchsicht der einschlägigen Literatur, soweit sie mir originaliter zugänglich war — wie beim Nachschlagen der Jahresberichte über diese — eine derartige Mitteilung hätte aufstoßen müssen.

Da dies aber nicht der Fall gewesen ist, darf ich wohl fast annehmen, daß, nach der vorliegenden Literatur zu urteilen, die Angabe Franks, das Verschwinden der Hessenfliege in Deutschland betreffend, auch für die Jahre nach 1897 gilt. Daß in den Berichten der D. L.-G. trotzdem Jahr für Jahr bis heute das Auftreten der Hessenfliege gemeldet worden ist, würde mich gewiß zu einiger Reserve hinsichtlich der eben gemachten Annahme veranlassen müssen. Aber ich habe doch Bedenken, die dort wiederholten Berichte als unbedingt beweisend anzusehen. Und zwar aus folgenden, gewiß nicht unbilligen Gründen.

Erstens ist das Auftreten der Hessenfliege dort in den Jahren, wo sie nach Franks Angabe gerade verschwunden sein sollte, ebenfalls gemeldet worden. Es liegt also ein offenbarer Widerspruch vor, der zwischen der Angabe Franks und dem Berichte besteht. Man wird es mir nicht verübeln, wenn ich da der Aussage des berühmten Pathologen einen höheren Wert beimesse, als den Meldungen, die in dem zitierten Bericht verarbeitet sind. Da, wie gesagt, in der wissenschaftlichen Literatur während des fraglichen Zeitraumes Angaben über das Auftreten der Hessenfliege in Deutschland nicht gemacht worden sind, kann ich wohl ohne weiteres annehmen, daß den zoologisch geschulten Mitarbeitern des Berichtes kein lebendes Material zur Untersuchung vorgelegen hat, daß mithin lediglich die Berichte von Sammlern verarbeitet worden sind. Daß die Sammler, selbst wenn sie auf Grund entomologischer Liebhabereien einige zoologische Kenntnisse besitzen, in etwas schwierigeren Fragen naturgemäß leicht sich irren, mindestens, weil sie eine wirklich vorhandene Schwierigkeit übersehen und eine Determination für einzig gegeben und selbstverständlich halten, die es keineswegs ist, das ist ja nur zu natürlich.

Hierfür, daß man sich — selbst wenn man einige Literatur zur Hand hat — über die Bestimmung eines geradezu populären Schädlings streiten kann, führe ich als Paradebeispiel den uns beschäftigenden Fall an und gedenke damit die vorliegende Veröffentlichung genügend zu rechtfertigen.

Da in der neueren Literatur — soweit die Autoren überhaupt sich die Mühe gegeben haben, genaue Maßzahlen zu bringen — übereinstimmend angegeben wird, daß die Puppenhüllen von Mayetiola destructor 2,5—3,5 mm lang sind, hatte ich zunächst einiges Bedenken, die Diagnose auf Hessenfliege zu stellen. Daß einige Puppenhüllen meines Materiales die Länge von 2,5 mm kaum erreichten, wäre wohl nicht weiter befremdend gewesen, sehr wohl aber der Umstand, daß eine große Anzahl der Tönnchen 4,5—5 mm lang waren. Ich sandte daher einiges Material an Herrn Prof. Dr. O. Taschenberg in Halle, unseren besten Kenner der pflanzenschädlichen Insekten. Sein freundlicherweise abgegebenes Urteil lautete aber dahin, daß er sich meiner Diagnose nicht anschließen könne, „ . . . die Größe der Puppen scheint mir entschieden gegen die Hessenfliege zu sprechen. Ich halte sie für diejenigen von Chlorops taeniopus“. Allerdings war auch ihm ein leiser Zweifel hinsichtlich der Diagnose Chlorops aufgestiegen, weshalb er sie vorderhand mit einiger Reserve stellen zu müssen meinte. Nun gelang es mir aber zufällig, unerwartet schnell auf dem von Herrn Prof. Taschenberg natürlich auch als entscheidend angesehenen und in seiner Antwort in Vorschlag gebrachten Wege den Beweis zu führen, daß es sich doch um die Tönnchenpuppen der Hessenfliege handelte — durch Erziehen der Imagines nämlich. Während ich das Ausschlüpfen, den allgemeinen

Angaben nach, erst frühestens um die Juli-August-Wende meinte erwarten zu dürfen, erhielt ich nach wenigen Tagen schon zu meinem nicht geringen Erstaunen einige Mücken. Diese konnten nun mit absoluter Sicherheit unschwer als Mayetiola destructor Say ♀♀ bestimmt werden. ♂♂ habe ich bis heute noch nicht erhalten. Die kleinen (nur 2,5 mm langen) männlichen Tönnchen sahen überhaupt nicht so aus, als ob sie in Bälde von der Imago verlassen werden würden. Ich vermutete, daß sie erst im August ausschlüpfen würden[1]).

Jedenfalls hat sich in diesem Falle gezeigt, daß infolge der völligen Ignorierung der Variabilität der Puppengröße in der gesamten neueren Literatur eine Irreführung außerordentlich leicht ist, der selbst Zoologen unter diesen Umständen zum Opfer fallen konnten. Um wieviel leichter wird der nicht zoologisch Geschulte — und solchen liegt heute leider immer noch vorwiegend die Erledigung der in Frage kommenden pflanzenpathologischen Untersuchungan ob — sich da in der Determination irren können!

Ich halte es aus diesem Grunde also für sehr wichtig, daß endlich einmal die erheblichen Fehler und Ungenauigkeiten, die sich bezüglich der Angaben über die Puppengröße und auch in der Schilderung des Aussehens der Imago von Mayetiola destructor Say in der Literatur eingeschlichen haben, richtiggestellt werden. Und das um so mehr, als die ungenauen Angaben allem Anschein nach immer wieder vom folgenden Autor übernommen worden sind, ohne daß eine Nachprüfung an lebendem oder geeignet konserviertem Material, oder auch nur ein Vergleichen der älteren Literatur stattgefunden hätte.

Ich stelle also fest, daß die Größe der Puppenhüllen von Mayetiola destructor Say zwischen 2,3 und 5 mm schwankt. Die großen Tönnchen (4,5—5 mm) sind die häufigeren.

Die abweichenden Angaben der Literatur sind falsch und entsprechend zu korrigieren.

Taschenberg hat in seiner bekannten praktischen Insektenkunde, IV, I, p. 9 ff. noch die beste Beschreibung der Hessenfliege gegeben und auch noch die meisten Daten aus den Originalarbeiten Löws und Wagners herübergerettet, freilich ohne verhindern zu können, daß manche dieser Angaben von späteren weggelassen wurden und noch späteren auf diese Weise unbekannt geblieben, mindestens trotz ihrer Wichtigkeit von ihnen ignoriert worden sind.

Taschenberg gibt hier die Länge der Imagines auf 2,5—3,5 mm, die Länge der Puppen aber gar nicht an. Ich bin geneigt, anzunehmen, daß man später das verwechselt, resp. die Imaginalmaße ohne weiteres auch auf die Puppe bezogen hat. Denn, soviel ich sehe, datiert das Erscheinen der fehlerhaften Angabe etwa vom Jahre 1880 ab, dem Erscheinungsjahre des Dipteren-Bandes des Taschenbergschen Buches.

Taschenberg hat selber 15 Jahre früher in seiner berühmt gewordenen Preisarbeit die Länge des Tönnchenpüppchens ziemlich richtig

---

[1]) Leider zeigte sich bei erneuter Durchsicht meiner Kulturgefäße im Oktober, daß sämtliche von mir als ♂♂ angesprochenen Puppen von Schlupfwespen (die inzwischen ausschlüpften) belegt gewesen sind. Die ursprünglich hier beabsichtigte Veröffentlichung meiner Aquarellskizzen verschiebe ich daher auf später. Ich hoffe, im nächsten Jahre ♂♂ züchten zu können. Bei der Mangelhaftigkeit der in der Literatur vorhandenen Abbildungen, die auf die alte Wagnersche Arbeit (wenigstens die besseren) zurückgehen, erscheint die Veröffentlichung völlig naturgetreuer Abbildungen des wichtigen Schädlings doch sehr wünschenswert.

(wohl, wie in den Abbildungen, in genauer Anlehnung an die Wagnersche Arbeit) auf $1^3/_4$—$2^1/_4$ ‴ angegeben. Herr Prof. Dr. Taschenberg hatte übrigens die Freundlichkeit, mir ausdrücklich mitzuteilen, daß ihm zu seinem Bedauern eigene Erfahrungen über die Entwickelungsstadien der Hessenfliege fehlten. Bei der noch heute bestehenden Schwierigkeit, weitere Kreise der praktischen Landwirte zur Einsendung von zweckmäßig verpacktem Material zu bewegen, und den geringen Dank, den der Zoologe meist mit seinen Bemühungen zu ernten pflegt, das Interesse des praktischen Landwirts auf die tierischen Schädlinge[1]) zu wecken, ist diese Tatsache durchaus erklärlich.

Wie schon angedeutet, ist die Angabe Taschenbergs nicht ganz genau, nach der die Größe der Puppenhüllen $1^3/_4$—$2^1/_4$ ‴ beträgt. Das würden nämlich 3—4 mm sein. Nun hat aber Taschenberg nach brieflicher Mitteilung kein Originalmaterial zur Untersuchung besessen, wie sich auch für seine Preisarbeit daraus ergibt, daß er die Figuren der Wagnerschen Dissertation spiegelbildlich kopierte. Also kann als Quelle für jene Zahlenangaben eigentlich nur die Wagnersche Dissertation in Frage kommen. Wagner gibt jedoch ausdrücklich an:

„Ihre (der Puppenhüllen) Länge beträgt bisweilen kaum mehr als 3 mm, in den meisten Fällen aber 4—5 mm“. Ich muß sagen, daß die weitaus meisten der sämtlich aus der Provinz Posen stammenden Puppenhüllen, die ich habe messen können, 5 mm lang waren. Meine Beobachtungen dürften sich danach also ziemlich genau mit denen Wagners decken, während die entsprechenden Angaben der Taschenbergschen Preisschrift nicht ganz genau sind.

Ritzema Bos hat in seinem wichtigen Handbuche[2]) auf genaue Maßangaben verzichtet. „Bald entsteht aus der Larve eine Puppe, welche in Form, Farbe und Größe einem Leinsamen ähnelt und in England unter dem Namen ‚Flax seed‘ bekannt ist“. So eingebürgert der Vergleich der Puppenhülle (wie doch in einem Lehrbuche der Korrektheit halber ruhig gesagt werden könnte) mit dem Leinsamen ist, so wenig genügt er als einzige Angabe zum Bestimmen des Schädlings[3]). Es kommt doch zu sehr darauf an, welche Leinsorte dem Untersucher geläufig ist. Wir werden noch weiter unten auf das Variieren der Puppenhüllenfärbung zurückkommen.

Auch Frank läßt sich in seinem bekannten Handbuche nicht näher über die Größe der Puppenhüllen aus. Er gibt von ihnen nur die kurze Diagnose: „Puppen: glänzend braun, elliptisch und abgeplattet, also einem kleinen Leinsamen ähnelnd.“

Man sieht ohne weiteres, daß der Vergleich mit einem „kleinen Leinsamen“ nicht gerade dazu beitragen kann, die Eindeutigkeit der Diagnose zu sichern.

Rörig hat in seinem, allerdings mehr in populärem Plaudertone gehaltenen Buche, überhaupt keine Maße angegeben. Er beschreibt die Hessenfliege nur kurz: „Sie ist eine kleine, schwarz gefärbte Gallmücke von wenigen Millimetern Länge, kenntlich an dem blutroten Hinterleib, der auf der Oberseite einen schwarzen Längsstreifen, an den Seiten und auf dem Unterleib ebensolche Flecken trägt“, „. . . ihre Puppen sind braun und flach, so daß sie einem Leinsamenkorn nicht unähnlich sehen.“

---

[1]) Die meist so lange als irrelevant gelten, bis einmal eine Beschädigung der Pflanzenkulturen von extremem Umfange das Gegenteil beweist.

[2]) Tierische Schädlinge und Nützlinge, Berlin 1891.

[3]) Leinsamen sind 3—4 mm lang!

Am größten freilich wird der Wirrwar bei Kirchner, ohne daß ich damit einem so verdienten Autor einen direkten Vorwurf machen möchte, weil ich nur zu gut weiß und in der oben mitgeteilten Aeußerung Taschenbergs es bestätigt finde, daß es gerade für den phytopathologischen Schriftsteller sehr oft nicht möglich ist, an geeignetem Material die Daten, die er über einen Schädling geben will, nachzuprüfen. Die Ungenauigkeiten beziehen sich auf die Beschreibung der Puppenhüllen und der Maden. Kirchner beschreibt in der ersten Auflage seines bekannten Buches durchgängig die Tonnenpuppen als „glänzend braun, elliptisch". Die Länge der Tonnenpuppen gibt er nicht an, sondern nur die der „gelblichweißen" 1) Maden, und zwar zu 3 mm. Die Körperlänge der Weibchen wird auf 2,5—3,5 mm angegeben.

In der zweiten, 1906 erschienenen Auflage seines Werkes wird an einer Stelle (p. 24) die Länge der Tonnenpuppen (die teils als „glänzend braun", teils als „glänzend braun, elliptisch" beschrieben werden) auf $3^{1}/_{2}$ mm angegeben, also, wie ich oben gezeigt habe, falsch oder mindestens stark irreführend. Die Beschreibung ist aber außerdem sehr geeignet, die, für die sie in erster Linie bestimmt ist, irrezuführen (Praktiker oder die — überwiegend! — nicht zoologisch geschulten Pflanzenpathologen), als die Bezeichnung „glänzend braun, elliptisch" sehr gut, ebenso wie die Längenangabe, auf die Puppenhüllen der Fritfliege paßt. Die Angabe, daß die Fritfliegentönnchen „viele dunkle Querrisse" haben, ist falsch oder doch so mißverständlich, daß kein Mensch auf Grund solcher Diagnosen eine sichere Unterscheidung der betreffenden Stände der beiden Schädlinge treffen könnte.

Unglücklicherweise stimmt außerdem in dem Kirchnerschen Buche die an den verschiedenen Stellen des Textes gegebene Beschreibung der Maden der Hessenfliege (und zwar in beiden Auflagen) nicht überein.

Taschenberg hat in seiner Preisschrift (p. 170) allerdings von einigen Fritfliegentönnchen, die ihm an Roggenpflanzen aus der Sommerfelder Gegend von Herrn Prof. Kühn übergeben worden waren, gesagt 2): „Wegen der zahlreichen dunkleren Querrißchen längs des ganzen Körpers ließen sich die Glieder nicht zählen. Der vordere Teil spitzt sich merklich mehr zu, als der hintere und schließt mit einem dunklen, sternähnlichen Fleckchen, welches den Eindruck macht, als wenn eine kleine, ringsum mit strahligen Falten versehene Oeffnung durch Zusammenziehen zugewachsen wäre. Von diesen Endsternchen zieht sich ein dunkler Faden in die innere Höhle hinein, der dann an der leeren Puppenhülse als schwarzes Häutchen sitzen bleibt und der Rückstand der Nagehaken ist. Das Hinterende ist etwas gestutzt, noch stärker querriefig und mit zwei stumpfen Zäpfchen, den Stigmenträgern, versehen. Maße der leeren Hülse: Länge $1^{1}/_{5}$ ‴, mittlere Breite $^{1}/_{3}$ ‴."

Auf Tafel IV, Fig. 22 bildet Taschenberg nun eine fast schwarzbraune Fritfliegen-Tönnchenpuppe ab. Dunkelgefärbte sind häufig, wie ich bestätigen kann, und haben dann auch oft dunklere — d. h. dann natürlich braun-schwarze — Querrisse. Bei weitem häufiger fand ich aber braune, ja hellbraune Puppenhüllen, die vollständig ausgefärbt sind und nie in ihrem Leben „schwarze Querrisse" zeigen. Sehr richtig hat

---

1) Vergl. weiter unten.

2) Hier spricht er übrigens davon, daß sich aus dem im Herbst 1863 eingesammelten Material „schon den 11. Januar 1864 mehrere Fliegen im Gefolge einiger Weibchen von Cecidomyia destructor" entwickelten. Die Puppen, wie die Imagines haben ihm aber jedenfalls nicht für seine Tafelfiguren zum Vorbilde gedient (vergl. oben).

es denn auch Taschenberg vermieden, den gelegentlichen Befund zu verallgemeinern. In seiner praktischen Insektenkunde gibt er ausdrücklich für Oscinis frit an: „Die Puppe ist walzig, glänzend hellbraun, undeutlich querringelig, vorn merklicher zugespitzt als hinten, dort mit einem dunklen, sternartigen Fleckchen versehen, welches den Eindruck macht, als wenn eine kleine, ringsum mit strahligen Falten versehene Oeffnung durch Zusammenziehen zugewachsen wäre. Von diesem Sternchen zieht sich ein dunkler Faden in die innere Hülse hinein, der dann an der leeren Puppenhülse als schwarzes Häutchen sitzen bleibt und der Rückstand der Nagehaken ist. Das Hinterende ist etwas gestutzt, stärker querrissig und mit zwei stumpfen Zähnchen, den Stigmenträgern, versehen. Länge 2 mm.“

Wenn man die in der Taschenbergschen Preisarbeit gegebenen Abbildungen der Frit- und Hessenfliegenpuppen miteinander vergleicht, oder dasselbe mit lebendem Material tut, so fällt es ohne weiteres auf, daß der von Taschenberg gewählte Ausdruck nicht gerade ein sehr glücklicher. Obgleich die Taschenbergsche Zeichnung ungenau ist (ganz so spitz-spindelförmig ist die Puppenhülle der Fritfliege nicht), so kann doch nicht von einer walzlichen Form die Rede sein. Wer noch keine Fritfliegentönnchen gesehen hat, muß nach solcher Beschreibung viel eher an eine Tönnchenpuppe von der Form, wie sie etwa die von Chlorops taeniopus aufweist, denken.

Es hat sich also da ein recht störender Irrtum in die sonst so praktisch eingerichteten und deshalb auch vielgebrauchten Kirchnerschen Bestimmungstabellen eingeschlichen. Zweifellos paßt die Bezeichnung „elliptisch“ (d. h. etwa gleich einem Rotationsellipsoid = ellipsoidisch) nicht auf die Hessenfliegenpuppen mit ihrem oft sehr stark ausgebildeten Schnabel und mit ihrer auch sonst ziemlich unregelmäßigen Form. Eher paßt diese Bezeichnung auf die Fritfliegentönnchen, jedenfalls besser, als der von Taschenberg dafür eingeführte Terminus: „walzlich“ [1]). Die Fritfliegentönnchen haben keineswegs zum Unterschiede von den Hessenfliegenpuppen „viele dunkle Querrisse“, noch sind sie überhaupt sonderlich dunkelbraun gefärbt. Ich habe Gelegenheit gehabt, viele Hunderte von Fritfliegenpuppen zu untersuchen: keine einzige hat jemals in der Färbung irgendwelche Aehnlichkeit mit der von Taschenberg abgebildeten gezeigt. Sie zeigten ein warmes Kastanienbraun, vielfach aber — bei ganz ausgefärbten Puppenhüllen, die ich bis zum Ausschlüpfen beobachtete — in einer recht hellen Nuanzierung. Sie unterschieden sich — abgesehen von Form und Größe natürlich — durch einen sehr fein mattierten Glanz (nicht durch „Querrisse“!), von dem mehr einer Politur gleichkommenden Glanz der heller oder dunkler mahagonibraunen Puppenhüllen der Hessenfliege. Daß es sich um zweifellose Fritfliegen- und Hessenfliegentönnchen handelte, bewies das Ergebnis der Zucht.

Merkwürdigerweise widerspricht sich die Beschreibung der Hessenfliegenmaden an den einzelnen Stellen des Kirchnerschen Werkes, und zwar in beiden Auflagen. Ich zitiere nur die neueste, in der es p. 44 heißt: „Ihre Maden sind 3 mm lang, dick, weiß“, während sie sonst, p. 24, 54, 56 und 73, als „gelblichweiß“ beschrieben werden.

Hält man sich die tatsächlichen Verhältnisse recht gegenwärtig, so

---

1) Z. B. definiert der Botaniker als „walzig“ Körperformen mit zwei ebenen, kreisrunden, im Verhältnis zur Seitenfläche um ein Vielfaches kleineren Endflächen, kreisrundem Quer- und viereckigem Längendurchschnitt!

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

muß man sagen, daß es für den Praktiker geradezu unmöglich gemacht wird, die verschiedenen, an junger Weizensaat etwa zu findenden Dipterenmaden — die ja in ganz verschiedenem Maße schädlich sind — zu erkennen, wenn (abgesehen von den oben behandelten Unrichtigkeiten in der Darstellung des Aussehens und der Größe der Puppenhüllen) unterschieden wird:

Mayetiola destructor: Maden 3 mm lang, gelblichweiß, dick, weiß;
Chlorops taeniopus: Maden 5—7 mm lang, gelblichweiß;
Opomyza florum: Maden 4—5 mm lang, glänzendweiß;
Hylemyia coarctata: Maden 5 mm lang, schmutzigweiß.

Die Larve der Hessenfliege anlangend, muß ich auf Grund meiner Beobachtungen behaupten, daß weder die eine noch die andere der Versionen der Kirchnerschen Beschreibung richtig ist. Es werden, wie es auch bei meinem Material der Fall gewesen ist, immer viele Hessenfliegenmaden in dem Stadium zur Untersuchung kommen, wo die Larve ausschließlich durch ihre völlige Durchsichtigkeit ausgezeichnet ist. Von einer Färbung kann dann nur insoweit die Rede sein, als die Larve, wenn sie mit gefülltem Darm zur Beobachtung gelangt, die deutlich durchschimmernden, grün gefärbten Contenta wird wahrnehmen lassen. Später treten die Fettkörper als zwei gelbliche, das grüne Darmband zu beiden Seiten umfassende Streifen hervor. Noch später verdecken die Fettkörper den Darm mehr und mehr, ohne ihn jedoch ganz den Blicken zu entziehen. Auch an den Seiten der Larve bleibt je ein völlig durchsichtiger Randstreifen frei.

„Dick" können die Larven der Hessenfliege erst im allerletzten Stadium ihres Larvenlebens genannt werden, in dem das Kopfende undeutlich wird (von oben gesehen) und sich nach unten hakenartig umbiegt. Die Larve steht dann dicht vor der letzten Häutung, bei der die Puppenhülle produziert wird, während die Larve selbst noch geraume Zeit bis zur eigentlichen Verpuppung ruht, ja unverpuppt, nur durch das Tönnchen geschützt, überwintert und erst wenige Wochen vor dem Ausschlüpfen der Imago sich verpuppt.

Damit dürfte das Wichtigste zur Richtigstellung der Beschreibung von Larve und Puppenhülle gesagt sein. Einiges möchte ich jedoch schon in dieser vorläufigen Mitteilung von meinen Beobachtungen über die Entwickelung der Hessenfliege veröffentlichen.

Ich finde, daß der Spielraum für die Dauer der Larven- und Puppenruhe, der, offenbar in Zusammenhang mit der Witterung, sehr variabel ist, weit größere Ausdehnung haben kann, als bisher bei uns in Deutschland beobachtet ist. Auf die sehr interessanten Feststellungen der amerikanischen Forscher will ich heute nicht näher eingehen. Die vollständige Behandlung der einschlägigen Probleme (ein so empfindliches Reagieren auf die Schwankungen der bestimmenden Faktoren, wie es die Hessenfliege in dieser Phase der Entwickelung zeigt, ist mir von keinem Insekt bekannt) würde für sich den Gegenstand einer umständlichen Untersuchung zu bilden haben.

Am frühesten scheinen die Mücken ausgeschlüpft zu sein, die Cohn nach einer Notiz Taschenbergs (Prakt. Insektenkunde. Bd. IV. p. 12) „von Mitte Juni bis 22. Juli" erzog. Das ist ganz erstaunlich. Später scheint nie wieder ein so frühes Auschlüpfen mit Sicherheit beobachtet worden zu sein. Ich finde überall nur die übereinstimmende Angabe, daß die Imagines der Sommergeneration um die Juli-August-Wende frühestens fliegen. Immerhin schlüpften, wie eingangs erwähnt, die frühesten meiner Imagines nur wenig über 2 Wochen später als die ersten Mücken der Cohnschen Zucht: nämlich am 2. Juli.

Wie auch sonst ist es wieder Taschenberg, der von allen Autoren am sorgfältigsten alle den Gegenstand betreffenden Angaben und Beobachtungen zusammengetragen hat. Wenigstens finde ich einzig und allein bei ihm die Tatsache vermerkt, die ich an meinem Material bestätigen kann, daß unter Umständen anstatt zweier halbjähriger eine einjährige Generation vorkommt, d. h., daß die Sommergeneration als Puppe überwintert[1]).

Frank, der in seinem Kampfbuch immerhin von allen neueren Autoren die Biologie der darin aufgeführten Schädlinge am ausführlichsten abhandelt, erwähnt die geradezu charakteristische Empfindlichkeit der Hessenfliege (in bezug auf die den Zeitpunkt des Ausschlüpfens bestimmenden Witterungsumstände) und die sehr variable Dauer der Puppenruhe mit keiner Silbe. Im Gegenteil, seine Worte legen die Annahme sehr nahe, daß ihm die Beobachtungen der alten Entomologen gar nicht bekannt gewesen sind. Er sagt (p. 87 l. c.): „Wie bei Fritfliegen und auch in gleichem Sinne wie bei diesen ist die Ablage der Eier und daher auch die Entstehung des Schadens an bestimmte Zeiten gebunden[2]). Dies tritt namentlich in bezug auf die Beschädigung der jungen Wintersaaten durch die Wintergeneration hervor. Denn auch die Hessenfliege legt die Eier, aus welcher diese Generation entspringt, im August oder in der ersten Hälfte September, so daß die nach Mitte September bestellten Wintersaaten meist verschont bleiben. Für die Frühlingsgeneration spielt hier die Zeit bei der Auswahl der Brutplätze anscheinend eine geringere Rolle als bei der Fritfliege, indem hier weniger die Sommersaaten, als hauptsächlich das im Halm stehende Winterkorn befallen wird. Die Mücke erscheint nämlich Ende April oder im Mai aus den überwinterten Tönnchenpuppen, und die Weibchen legen dann je 80—90 Eier, und zwar meist nur je 1 oder 2 an eins der unteren Halmblätter. Die auskommenden Maden kriechen am Blatt abwärts nach der Blattscheide, wo sie sich über dem nächsten Knoten ständig niederlassen. Darum brechen die Halme vorwiegend an einem der unteren Knoten. Wind und Regen tragen dann das ihre dazu bei, die Halme an den benagten Stellen zum Knicken zu bringen. Die Puppen scheinen eine verhältnismäßig lange Ruhe durchzumachen; sie bleiben bis zur Erntezeit an den Halmen sitzen, ehe die Mücke ausschlüpft, die deshalb auch keine zweite Generation zu machen, sondern dann gleich die Eier für die Wintergeneration abzulegen scheint. Darum bleiben die Tönnchenpuppen in den Stoppeln zurück, soweit sie an den untersten Teilen der Halme sitzen, oder kommen auch mit ins Stroh, wenn sie höher gesessen haben. Jedenfalls schlüpfen aber im August oder spätestens im September die Mücken aus, um nun für die Unterbringung der Winterbrut zu sorgen. Es ist bekannt, daß auch die Hessenfliege wildwachsende Gräser zur Ablage der Eier wählen kann, wenn sich ihr zur passenden Zeit keine geeigneten Getreidepflanzen bieten."

Vergleichen wir hiermit den Bericht Taschenbergs und zum Schlusse die Folgerungen, die ich aus dem Verhalten des mir vorliegenden Materiales glaube ziehen zu müssen.

---

[1]) Die Puppen sind, trotzdem das Kulturgefäß bis Anfang Dezember in meinem Arbeitszimmer, seit dem erst in einem ungeheizten, aber frostfreien Raum steht, bis heute (Anfang März) nicht ausgeschlüpft.

[2]) Von mir gesperrt.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Taschenberg spricht zunächst ausdrücklich davon, daß nicht selten die Blattscheiden durch die Menge der dahintersitzenden Larven bauchig („zwiebelartig") anschwellen, so daß, „wo viele Maden saugen", das Absterben der ganzen Pflanze erfolgt (Winterung!). Die Scheinpuppen überwintern dann in der Erde „und entwickeln sich im nächsten Frühjahre ebensogut wie andere, die durch Pflanzenteile gedeckt waren".

„Außer an den beiden Wintersaaten hat man aber auch schon Scheinpuppen und Puppen an den Halmen der ausgefallenen Gerste gefunden, die sich bekanntlich aus verschiedenen Gründen um die Erntezeit zum Verdrusse des Landwirts manchmal reichlich selbst aussät. In einem solchen Falle muß nun der Frühjahrsschwarm einen Brutplatz aufsuchen und da könnte auch Sommerweizen oder Sommerroggen hierzu dienen, es würde dann das Vorkommen ganz dem der Winterbrut an den eben aufgegangenen Wintersaaten entsprechen, die Wirkung jedoch wegen des gedeihlichen Wachstumes jetzt sehr geringfügig und kaum nachteilig sein, also auch nicht bemerkt werden. Abgesehen von der eben erwähnten Unregelmäßigkeit wird die erste Brut auf grünen Saatfeldern, die zweite auf Stoppelfeldern geboren; nun hat man aber auch als zweite Unregelmäßigkeit im Frühjahre in Stoppeln die Scheinpuppen (23. März) und die eigentlichen Puppen (2. April) gefunden, und zwar in Weizenstoppeln, die im jungen Klee standen, den man zwischen die vorjährigen Wintersaaten gesät hatte. Diese Puppen müssen notwendig der ersten Brut entsprossen und nicht in der normalen Zeit zur Entwickelung gelangt sein, so daß hier eine einjährige Generation vorläge. Jedenfalls zeigen beide Ausnahmefälle, daß sich die Art auf die eine oder andere Weise in einer Gegend unvermerkt erhalten könnte, daß sie unter ihr günstigen Bedingungen unerwartet verheerend auftritt und dann ebenso schnell wie verschwunden zu sein scheint."

Wenn Taschenberg angibt, daß die Eiablage an der einzelnen Pflanze „nicht selten" eine sehr reichliche ist, so muß ich sogar — gegen Frank also — sagen, daß sie in diesem Jahre in der Provinz Posen außerordentlich häufig eine sehr reichliche war. In einigen Proben war $^{1}/_{3}$ oder gar die Hälfte der befallenen Pflanzen mit je 8, 9, sogar 11 (!) Puppen belegt. Vielfach hatten die Blattscheiden nicht genügend nachgegeben und die Pflanzen hatten so den Feind förmlich zerdrückt. Es waren dann einzelne Puppenhüllen vollständig deformiert. Bei diesen konnte von bloß „unregelmäßigen Eindrücken, platten Stellen oder feinen Längsriefen" nicht mehr die Rede sein. Sie waren zum Teil geradezu von der befallenen Pflanze erwürgt worden. Freilich war in manchen Fällen dabei eine Drucknekrose des Gewebes der Halmwand die Folge gewesen. Fäulniserreger hatten sich angesiedelt und das ihrige zur Erweichung der abgestorbenen Zellen beigetragen. So erklärt es sich, wie es möglich war, daß in einigen Fällen die Puppenhüllen in das Halminnere geraten waren.

Ich halte es nach meinen Beobachtungen für ganz sicher, daß in Gegenden, die infolge ihres ausgesprochen kontinentalen Klimas einen sehr warmen Herbst haben, dem ein geradezu exzessiv heißer Sommer voranzugehen pflegt (wie das z. B. in einigen Teilen der Provinz Posen, besonders aber im Bromberger Kreise der Fall zu sein scheint), von der Hessenfliege 3 Generationen gemacht werden. Die in den ersten Julitagen ausgeschlüpften Imagines waren vollkommen normalen Bedingungen ausgesetzt gewesen. Ich hatte die Zuchtgefäße im Freien auf einem

Balkon gehalten. Sie wären also sehr wohl im stande gewesen, einer zweiten „Sommer-“ (im Gegensatz zur ersten oder Frühlingsgeneration) Generation das Leben zu geben, die, selbst wenn sie wesentlich längere Zeit als die erste zur Entwickelung gebraucht hätte (nämlich statt 2 Monate — von der April-Mai-Wende bis zur Juni-Juli-Wende — 3 Monate oder mehr — von der Juni-Juli-Wende bis zur September-Oktober-Wende oder gar bis in den Oktober hinein), sehr wohl bei den klimatischen Verhältnissen des Beobachtungsortes in der Lage gewesen wären, noch rechtzeitig die jungen (womöglich der Saatregel, die dem Befall mit Getreidefliegen vorzubeugen sucht entsprechend spät, Ende September, bestellten) Wintersaaten mit Eiern für die dritte, die Wintergeneration, zu belegen. Selbstverständlich kommt für sie die von Taschenberg erwähnte Möglichkeit: Eiablage an Gerstenselbstaussaat, auch in Frage.

Also, — was bisher für Deutschland nicht mit Sicherheit festgestellt zu sein scheint: Es können auch bei uns, unter günstigen klimatischen Bedingungen, nach den Terminen zu urteilen, an denen das Ausschlüpfen der Fliegen stattfindet, und da, wie auch aus Cohns Beobachtungen hervorgeht, die Puppenruhe unter Umständen sehr stark abgekürzt werden kann, **drei Generationen der Hessenfliege auftreten**, ähnlich wie das für Kalifornien (und meines Wissens auch noch für andere Südstaaten) schon bekannt ist.

Andererseits können Puppen der Frühjahrsgeneration, wie das ein Teil meines Materials zeigt (leider hatte ich nicht die Einsendungsorte auf allen Zuchten notiert, so daß ich jetzt nicht angeben kann, woher das fragliche Material stammt und welche Witterungsverhältnisse an der Stätte seiner Entwickelung obgewaltet haben und deren Eigenart bedingen konnten) sich außerordentlich langsam entwickeln, so langsam, daß **hier das Vorliegen einer einjährigen Generation** zu erwarten steht. Ein ähnliches Material scheint dasjenige gewesen zu sein, von dem Taschenberg, wie oben erwähnt, in seiner Preisarbeit spricht. Daß er seine Hessenfliegenweibchen schon am 11. Januar ausschlüpfen sah, hängt damit zusammen, daß er sein (im Herbste gesammeltes) Material im warmen Zimmer gehalten hatte, während ich meine Zuchten in einem ungeheizten Raume stehen habe, der durch ein kleines, aber schlecht schließendes Fenster gerade so weit abgekühlt wird, wie es etwa den Verhältnissen entspricht, die hinter der Blattscheide und unter einer schützenden Schneedecke gegeben sein mögen. Jedenfalls ist die Angabe Franks irrig, oder mindestens sehr mißverständlich, nach der, wie bei Fritfliegen und auch in gleichem Sinne, wie bei diesen, die Ablage der Eier und daher auch die Entstehung des Schadens an bestimmte Zeiten gebunden ist. Das gerade Gegenteil ist, infolge der außerordentlich von der Witterung abhängigen Entwickelung der Fliege, der Fall. Die schönen Untersuchungen des alten Balthasar Wagner illustrieren das (nur daß sie leider vergessen zu sein scheinen) auf das eindringlichste.

Zum Schlusse noch einige ganz kurze Bemerkungen über die Imago (♀), die nur auf einige zu Irrtümern leicht Anlaß gebende bildliche Wiedergaben eingehen sollen, da ich, wie gesagt, nach Aufzucht der ♂♂ eine genaue Beschreibung an der Hand völlig naturgetreuer Abbildungen zu geben gedenke, von denen die das ♀ betreffenden schon fertig vorliegen.

Mir stand von der Wagnerschen Arbeit ein Abdruck zur Verfügung, dessen Tafeln nicht koloriert waren. Die Taschenbergsche Kopie (in der Preisarbeit) ist koloriert und bringt von allen vorhandenen Abbildungen das charakteristische Aussehen (in Bau und Färbung) der

Fliege am besten zur Darstellung. Daß mit ihr die völlig unzureichenden Holzschnitte von Franks und Taschenbergs (und anderer Autoren) späteren Zusammenstellungen nicht konkurrieren können, liegt an der Technik und dem gewählten (zu kleineren) Maßstabe der Vergrößerung. Dagegen sind die Abbildungen im Kirchnerschen Atlas und im Frankschen Kampfbuch direkt irreführend, so sehr, daß ich nicht glauben kann, daß sie sorgfältige Wiedergaben der Originalzeichnungen sind. Die Leistung der modernen Lithographie schneidet in diesem Falle sehr ungünstig ab, wenn man die primitiv illuminierten Drucke der sechziger Jahre daneben hält. Der so eminent zarte Bau der Cecidomyiden ist nicht zu erkennen. Von einer Wiedergabe des so charakteristischen Fühlerbaues (Perlschnur) ist überhaupt nicht die Rede.

Aber die Abbildungen beider Werke, die heute von Pflanzenpathologen, Landwirten etc. so vorwiegend benützt werden, sind leider auch in den Farben absolut falsch. So wird nach Kirchners Figur jede auf dem Felde gefangene Pilzmücke sich als Mayetiola destructor legitimieren können, nie sieht eine Hessenfliege dem dort abgebildeten, schwarzbraunen, recht stämmigen Dipter irgendwie ähnlich.

Bei Frank (Taf. VI) sind die Farben viel zu hell gewählt, fast hellgrau, daß die Mücke (abgesehen von den bekannten bläulich-karminroten Stellen) vorwiegend schwarz beschuppt ist, wird absolut nicht aus der Abbildung ersichtlich. Bei der Wiedergabe der Mücke in natürlicher Größe (Fig. 17) ist auszusetzen, daß die Färbung hier ganz hellgrau gewählt ist. Auch sind die Tiere viel zu groß (5,5 mm lang) gezeichnet.

Auf die für die Erkrankung sehr wichtige und sofort auffallende Eigenschaft der Hessenfliege, nach dem Tode ziemlich rasch (etwa nach 5—6 Stunden oft schon) die charakteristische rote Färbung der Segmentgrenzen zu verlieren, ist in der ganzen neueren Literatur (seit Taschenberg) überhaupt nicht mehr eingegangen worden. Vielleicht hat für die Kirchnersche Figur als Vorlage solches nicht mehr frisches Material gedient.

Wie ich schon ohen sagte, soll jedoch ein genaueres Eingehen auf die Anatomie und Färbung der Imagines beiderlei Geschlechts einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Nachdruck verboten.

Ueber einige neue Gallen und Gallenerzeuger aus Chile.

Von Prof. Dr. **Kieffer** (Bitsch) und **P. Herbst** (Concepcion).

Mit 7 Textfiguren.

Baccharis eupatorioides Hook. et Arn.

Galle (Fig. 1) einem Zweige aufsitzend, aus einer Knospe gebildet, meist zu mehreren beisammen, bei der Reife fast walzenförmig, 8—10 mm hoch und 6—7 mm dick, außen aus grünen, später braunen, dreieckigen, 5 mm langen und 4 mm breiten, sich dachziegelartig deckenden Schuppen zusammengesetzt, innen aus zahlreichen, blassen, geraden, sehr dünnen und etwa 8 mm langen, Spreublättchen ähnlichen Bildungen bestehend, welche die einzeln lebende Larve umschließen. Die Verwandlung findet in der Galle statt, ohne Cocon.

Puppe mit feinen spitzen Wärzchen, ohne Spinulae dorsales und ohne Aculei frontales. Scheitelborsten sehr klein; Stigmen des **Thorax** walzenrund, gelblich, nur zweimal so lang wie dick.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Imago. Scheueria longicornis n. g. et n. sp. Diese meinem lieben Freunde, Herrn Artur Scheuer, gewidmete Gattung ist von Rhopalomyia, durch die Gestalt der Krallen, den beschuppten Flügelvorderrand und die an der Einmündung des Cubitus unterbrochene Randader zu unterscheiden. Körper rot; auf dem Rücken drei schwarze Längsbinden, deren mittlere hinten abgekürzt ist; Hinterleibsringe dorsal mit zwei um ihre Breite voneinander getrennten braunen Längsbinden; Flagellum, Mesosternum, eine breite und kurze Querbinde auf der Bauchseite der Hinterleibsringe und die Basalglieder der Zange braun. Mund sehr kurz. Taster aus einem kurzen, eirunden, dicht und lang beborsteten Glied bestehend. Fühler 2 + 18-gliedrig; die zwei ersten Geißelglieder verwachsen; beim ♂ sind die Geißelglieder walzenrund, zweimal so lang wie dick, mit einem stielartigen Fortsatz, der zuerst ein Drittel, in der Endhälfte der Fühler aber die Hälfte der Länge eines Gliedes erreicht; Endglied ohne Fortsatz. Beim ♀ sind die Geißelglieder ebenfalls walzenrund, das 1. und 2. dreimal so lang wie dick, die folgenden allmählich kürzer, die letzten 1½mal so lang wie dick, fast ohne Fortsatz, proximal mit einem langen Haarwirtel, in den 3 distalen Vierteln mit zahlreichen geschlängelten, querlaufenden, fadenartigen Bildungen; Endglied fast dreimal so lang wie dick. Flügel glashell; Vorderrand mit schwarzen, anliegenden Schuppen; Cubitus bogig gekrümmt, in die Flügelspitze mündend; vordere Zinke der 3. Längsader fast gerade, die hintere gebogen; ohne Querader. Beine dicht schwarz beschuppt; Empodium länger als die Krallen, Pulvillen sehr klein; Krallen schwarz, dick, unter der Mitte mit einem bogig eingekrümmten Zahn von gelber Farbe. Legeröhre hervorstreckbar, Endglied nicht länger als dick, fast kuglig. Zange ziemlich groß; Endglieder halb so dick wie die Basalglieder, schwach bogig gekrümmt, an beiden Enden etwas verschmälert, am Ende mit einer dicken, schwarzen Klaue; Griffel sehr lang, die Basalglieder weit überragend; obere Lamelle zweilappig, die Mitte der Basalglieder erreichend; mittlere Lamelle ebenfalls zweilappig, das vordere Drittel der Basalglieder nicht überragend, etwas kürzer als die untere Lamelle. Körperlänge ♂ ♀ 3,6–4 mm. Concepcion, im Januar.

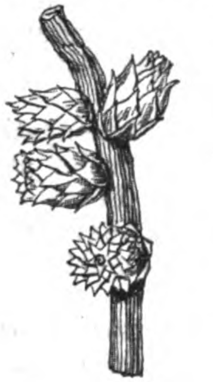


Fig. 1. Gallen von Scheueria longicornis auf Baccharis eupatorioides.

Auf derselben Pflanze.

Gallen (Fig. 2) der vorigen ziemlich ähnlich, dadurch aber von ihr abweichend, daß sie etwas kleiner sind, aus schmalen, lanzettlichen Schuppen bestehen, und in großer Anzahl um den Zweig herum sitzen, so daß ihre Anhäufung ein kugelartiges, 30 mm im Durchmesser erreichende Gebilde darstellt.

Trypetidengalle.

Galle fast kuglig, 10—15 mm im Durchmesser erreichend, von Blättern durchwachsend, aus einer weichen, weißen, schwammigen, fast wolligen Masse bestehend. Sie stellt eine Deformation der Zweigspitze dar und ist wohl als ein Exsudationsprodukt der durch das Cecidozoon gereizten Pflanze anzusehen. Im Innern derselben, in der Markschicht des schwach verdickten Zweiges, befindet sich eine gleich breite, 4 bis 5 mm lange und 2 mm breite Larvenkammer, welche Mitte Dezember die Nymphe der Fliege enthielt. Wahrscheinlich identisch mit einer auf Baccharis sp.? vorkommenden Deformation des Blütenstandes (vgl. Ann. soc. sc. Bruxelles. 1906. T. XXX. p. 223).

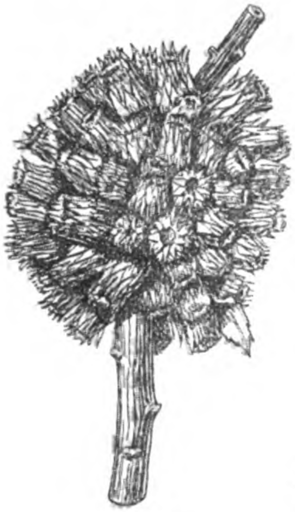


Fig. 2.

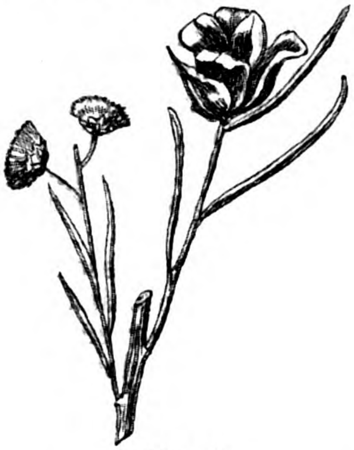


Fig. 3.

Fig. 2. Gallen auf Baccharis eupatorioides.
Fig. 3. Galle von Perrisia chilensis auf Baccharis rosmarinifolia.

Baccharis rosmarinifolia Hook. et Arn.

I. Cecidomyidengallen.

1. Offene Galle.

Galle (Fig. 3) eine blumenartige Deformation der Triebspitze darstellend. Die 8—10 Endblätter des Triebes genähert, stark verbreitert und verdickt, aufrecht, am Ende mehr oder weniger zurückgekrümmt, 15—20 mm lang und 5—8 mm breit, während die normalen länger und nur 1,5 mm breit sind; diese breiten Blätter umgeben eine Anhäufung von kleineren und schmäleren Blättchen, welche nicht breiter als die normalen erscheinen und eine Länge von 5—6 mm erreichen. Larven gesellschaftlich zwischen den inneren Blättchen.

Puppe mit kleinen, spitzen Wärzchen; Spinulae dorsales fast glashell und klein; Aculei frontales fehlend; Stigmen des Thorax gelb, distal allmählich verengt, oben schwach gekrümmt, 6—8mal so lang wie dick am Grunde; Scheitelborsten sehr lang, doppelt so lang wie die Stigmen.

Imago. Perrisia chilensis n. sp. Weißlich; Flagellum, 3 Binden des Thorax, ein Fleck auf den Pleuren, Mesosternum, breite, von einer weißlichen Mittellängslinie durchzogene Querbinden auf der Dorsalfläche des Hinterleibes, sowie Querbinden auf der Bauchseite und Zange braun. Taster 4-gliedrig; die Glieder 2, $2^1/_2$, 3 und $2^1/_2$mal so lang wie dick. Fühler 2 + 12-gliedrig; 1. und 2. Geißelglied verwachsen; beim ♀ sind die Geißelglieder fast walzenförmig, $1^1/_2$mal so lang wie dick, ohne deutlichen stielartigen Fortsatz; 12. Glied doppelt so lang wie dick, am Ende abgerundet. Beim ♂ sind die Geißelglieder ebenfalls fast walzenrund und $1^1/_2$mal so lang wie dick, mit einem stielartigen Fortsatz, dessen Länge die des Gliedes erreicht. Flügel glashell; Vorderrand schwarz beschuppt; Querader wenig vor der Mitte der 1. Längsader; Cubitus mäßig weit vor der Flügelspitze mündend, Vorderrand an dieser Stelle unterbrochen; vordere Zinke der 3. Längsader kaum bogig, fast die Richtung des Stieles fortsetzend, die hintere schwach gebogen, einen

Winkel von 45° mit der vorderen bildend. Beine dicht und schwarz beschuppt; 5. Tarsenglied $3^1/_2$mal so lang wie dick; Empodium wenig länger als die Krallen, welche in zwei gleichlange Teile gespalten sind. Abdomen oberseits ohne abstehende Haare, mit breiten, schwarzen Schuppen. Legeröhre lang hervorstreckbar; Endglied schlank, 5mal so lang wie dick, basal unterseits mit einem kleinen Läppchen. Endglied der Zange halb so dick wie die Basalglieder, distal allmählich verschmälert; obere Lamelle zweilappig, so lang wie die Basalglieder der Zange, nicht länger als die ebenfalls zweilappige aber schmälere mittlere Lamelle; untere Lamellen etwas länger. Körperlänge ♂ ♀: 1,5 mm. — Concepcion, im Januar.

2. Geschlossene Galle.

Galle eirund bis ellipsoidal, seltener kuglig, am oberen Ende abgerundet oder mit einer kurzen Spitze, 10—15 mm lang und 5—8 mm dick, außen kahl, grün, bei der Reife mehr oder weniger runzlig, innen weißlich, markig, wenig hart; Wand dick; Larvenkammer 5 mm lang und 2 mm breit; Flugloch nahe dem oberen Ende. Diese Gallen sitzen in den Blattwinkeln oder an einer Triebspitze und sind auf Kosten einer Knospe gebildet.

Puppe einzeln, 3,5 mm lang; Puppenexuvie glashell, am Thorax stark chitinisiert, glänzend schwarz und glatt; Ringe des Abdomens mit feinen und spitzen Wärzchen; ohne Spinulae dorsales. Cubitus der Imago bogig gekrümmt, hinter der Flügelspitze mündend. Beine beschuppt. Die Verwandlung findet in der Galle statt, in einem nicht aus Fäden bestehenden, fast durchscheinenden, gelblichweißen Cocon. — Pennalolen, in der Provinz Santiago, in einer Höhe von 1000 m.

II. Coccidengalle.

Lecanium resinatum n. sp. Dieses Insekt erzeugt gelbe, ziemlich regelmäßig kuglige oder halbkuglige, 4—5 mm im Durchmesser erreichende, dem Stengel aufsitzende und meist dicht gedrängte Harzgallen. Im Innern derselben befindet sich eine braune, halbkuglige Lecanium-Art, unter welcher im Januar die kleinen Larven der Coccide in großer Anzahl vorhanden waren. Larve rot, von gestreckter Gestalt zweimal so lang wie breit; Augen schwarz; Antenne 7-gliedrig; Endglied das längste, mit mehreren Borsten, deren erste, von dem Basalteile ausgehend, länger als die ganze Antenne ist. Rostrum in der normalen Lage die hinteren Coxae überragend. Die zwei dicken Fäden der präanalen Lappen länger als der Körper. Körperhaut lederartig gerunzelt.

Diese Harzgallen werden massenhaft von Ameisen besucht. Auch folgende Sphegidenarten sind häufig an denselben zu treffen: Podagritus Gayi Spin., Sphex Spinolae Sauss., Tachysphex rufitarsis Spin., sowie die Pompiliden Ceropales chilensis Spin. und Pompilus nitidulus Guér. — Concepcion.

III. Aphiden- oder Psyllidengalle.

An derselben Pflanze kommt auch eine von Aphiden oder Psylliden erzeugte Blattdeformation vor. Die befallenen Blätter sind verdickt, distal breiter als die normalen, von gelber Farbe und mit runzliger Oberfläche; an dem erweiterten Teile sind sie nach innen gefaltet, so daß die beiden Ränder zusammentreten; der basale nicht erweiterte Teil nimmt ebenfalls Anteil an der Hypertrophie und ist stets mehr oder weniger verdreht. Häufig erreichen aber diese Blätter nur die Hälfte der normalen Länge; in diesem Falle sind sie in ihrer ganzen Länge erweitert und gefaltet und stellen eine bauchig aufgetriebene, fast walzenrunde, etwas seitlich zusammengedrückte Galle dar, deren Breite die eines normalen Blattes zwei- bis dreimal übertrifft. Im Innern befanden sich nur noch die weißlichen Ausschwitzungsprodukte der Larven des Gallenerzeugers. — Concepcion, im Dezember.

Escallonia pulverulenta Pers.

Galle auf jungen Blättern, die Spreite durchwachsend, meist zu vielen beisammen und das Blatt in seiner Entwickelung hemmend. Die Galle ist gelblich gefärbt, mit rostgelben, kurzen Haaren dicht besetzt, an der Blattoberfläche in Form einer schwach gewölbten, nur 1 mm hohen, im Umriß kreisrunden und 2—3 mm im Durchmesser erreichenden Erhöhung hervortretend, welche meist eine walzige, 1—2 mm lange und ebenfalls dicht behaarte Röhre trägt; unterseits verjüngt sie sich allmählich in einen 2 mm langen, abgestutzten und kurz behaarten Kegel, der am Ende nur 1 mm dick ist. Jede Galle enthält eine sehr kleine, scharlachrote Coccide; letztere ist eirund, nicht deprimiert, glatt und kahl, nur am vorderen Ende mit einigen Borsten.

Auch an den Blattstielen, sowie an der Rinde der jungen Zweige kommen diese Gallen vor; sie bestehen alsdann nur aus der gewölbten Scheibe mit dem röhrenförmigen Fortsatz. — Concepcion, am 25. November.

Gymnophyton polycephalum Clos.

Galle. Unter dem Blütenstande dieser Umbellifere befinden sich oftmals unregelmäßige, allseitige, längliche, seltener fast kuglige Stengelschwellungen, welche mit den an Rubus vorkommenden Gallen von Diastrophus rubi Hart. ziemlich Aehnlichkeit haben. Während der graugrün gefärbte Stengel, unterhalb der Galle, nur eine Dicke von 1 bis 1,5 mm erreicht, zeigen die Schwellungen eine Dicke von 4—10 mm und eine Länge von 5—30 mm; ihre Oberfläche ist braun, kahl und mehr oder weniger längsgestreift, wie der normale Stengel. Der Durchschnitt zeigt im Innern eine markige, weiße Substanz, in welcher zahlreiche Larvenkammern liegen; letztere sind 2—3 mm lang und nur 0,5 mm breit, und um ein Drittel ihrer Breite voneinander entfernt.

Larve. Jede Galle beherbergt eine 3 mm lange, blaßgelbe Larve, welche ringsum mit benabelten Wärzchen bedeckt ist. Pleuralpapillen wenig deutlich; äußere Pleuralpapille am 2. und 3. Brustringe mit einer kräftigen Borste; ebenso zeigen die hinteren Ventralpapillen, die Lateral-, Dorsal- und Terminalpapillen eine kräftige Borste; Sternalpapillen groß, am 1. Brustringe gekörnelt, an den zwei übrigen glatt. Die Verrucae spiniformes fehlen; nur längs der spaltförmigen Oeffnung des hinten abgerundeten Analringes sind solche vorhanden; Analpapillen groß, zu je zwei und zwei voneinander getrennt. Gräte (Fig. 4) groß und schwarzbraun; der vordere erweiterte Teil endigt in zwei spitze, dreieckige und weit voneinander abstehende Zähne; zwischen

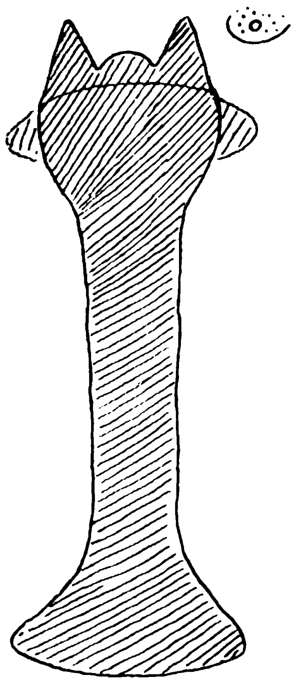


Fig. 4. Gräte von Lasioptera monticola aus Gymnophyton polycephalum.

denselben befindet sich ein bogenförmig abgerundeter, querer Vorsprung. Verwandlung in der Galle.

Nymphe ohne Aculei frontales und ohne Spinulae dorsales; Bruststigmen kaum chitinisiert, dünn, walzenrund, 4—6mal so lang wie dick; Scheitelborsten mäßig lang, doppelt so lang wie die Bruststigmen. Puppenexuvie glashell, mit feinen, spitzen Wärzchen.

Imago. Lasioptera monticola n. sp. ♂ ♀. Fleischrot; dorsale Seite des Abdomens und Beine dicht schwarz beschuppt; der Hinterrand der 7 Hinterleibsringe dorsal mit weißen Schuppen, ausgenommen in der Mitte; Scutellum dicht weiß beschuppt; Mesonotum besonders vorn, Scheitel und Stirn weniger dicht weiß beschuppt; Schwinger weiß; Fühler und Zange schwarzbraun; Bauch mit zerstreuten weißen Schuppen. Nach Abreibung der Schuppen erscheint das Mesonotum, sowie das Scutellum, das Metanotum und das Mesosternum schwarz oder schwarzbraun; ebenso zeigt das Abdomen oberseits breite, schwarze Querbinden; Beine schmutziggelb. Augen kahl, oben zusammenstoßend. Taster aus 4 kurzen Gliedern bestehend. Fühler des ♀ 2 + 15-gliedrig; 1. und 2. Glied wie gewöhnlich; die folgenden etwas quer, ausgenommen das kurz eirunde Endglied; alle dicht aneinander gedrängt. Fühler des ♂ 2 + 14-gliedrig und gestaltet wie beim ♀, doch sind die Geißelglieder wenigstens so lang wie dick. Flügel ziemlich weiß; Vorderrand, 1. und 3. Längsader dicht schwarz beschuppt, ohne weißen Punkt; vordere Zinke der Posticalader viel länger als die hintere, letztere die Richtung des Stieles fortsetzend. Letztes Tarsenglied 3—4mal so lang wie dick; Krallen mit einem kurzen Zahn am Grunde, kaum so lang wie das Empodium; ohne deutliche Pulvillen. Zange des ♂ gestaltet wie bei Lasioptera gewöhnlich; Endglieder schlank, allmählich dünner werdend; alle drei Lamellen zweilappig. Legeröhre des ♀ weit hervorstreckbar, mit zahlreichen kurzen Borsten, aber ohne die bei den europäischen Lasioptera-Arten üblichen chitinösen, häkchenartigen Gebilden; Endglied kaum länger als dick, mit kurzen, stumpfen Borsten oder kurzen, fadenförmigen Gebilden dicht besetzt, am Grunde ventral mit einem kleinen Läppchen. Körperlänge ♂ ♀: 2 mm. — Pennalolen, 19. November, bei einer Höhe von 1300 m.

Hydrangea scandens.

Galle kuglig, erbsengroß, das Blatt durchwachsend, unterseits stärker als oberseits hervortretend. Ihr Durchmesser beträgt 7—8 mm; die Wand ist dünn, nur 0,6—0,8 mm dick und ziemlich hart; die Oberfläche kahl, glanzlos, mehr oder weniger braun, wenigstens an den reifen Exemplaren. Sie befindet sich bald einzeln, bald zu mehreren auf einem Blatte, oftmals dicht gedrängt und in solcher Anzahl, daß das Blatt seine normale Entwickelung nicht erreicht und stark eingekrümmt, schmäler und kürzer als die normalen erscheint. Am unteren Pol der Galle befindet sich meist ein kleines Wärzchen.

Larve. Angeiomyia spinulosa n. g. et n. sp. Die 4 mm große Larve, welche die Blattgallen auf Hydrangea erzeugt und einzeln in denselben lebt, unterscheidet sich von allen mir bekannten gallenbewohnenden Cecidomyiden, durch die senkrecht abstehenden gelben Stacheln, mit welchen sie bedeckt ist; nur der kurze, dunkler gefärbte Kopf ist glatt. Der Körper ist ziemlich walzenrund, schmutziggelb oder bräunlichgelb, die Segmente stark abgesetzt, Analsegment abgerundet. Gräte schwarzbraun (Fig. 5), vorn erweitert, mit vier gleichgroßen, spitzdreieckigen Zähnen, deren innere weiter von den äußeren als voneinander

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

entfernt sind. Sternalpapillen klein. Lateral- und Dorsalpapillen mit einer langen, kräftigen, gelben Borste.

Myrteugenia stenophylla Berg.

Galle (Fig. 6) in den Blattachseln oder an der Spitze eines Triebes, aus einer Knospe gebildet, fast holzig, spitz-eiförmig, 12—20 mm lang und 7—9 mm dick, im Enddrittel zugespitzt und komprimiert, oftmals in eine 2—5 mm lange, walzenförmige Spitze ausgezogen. Fläche grau, matt oder schwach schimmernd und kahl. Wand 2—3 mm dick. Larvenkammer nur 2 mm breit, die ganze Länge der Galle durchziehend; Oeffnung unter der Spitze.

Larve. Oligotrophus? eugeniae n. sp. Weiß, dick, 3 mm lang, mit zugespitzten Wärzchen, ohne Verrucae spiniformes; Pleuralpapillen mit einem sehr kleinen Börstchen; äußere Pleuralpapille an allen drei Brustringen mit einer stärkeren Borste; Lateral- und Dorsalpapillen, sowie die Terminalpapillen mit einer langen, gelben Borste; Analring hinten abgerundet. Spatula braun, linealförmig, vorn nicht erweitert, sondern kurz zugespitzt. Diese Larve lebt einzeln in den Gallen. — Concepcion, im Januar.

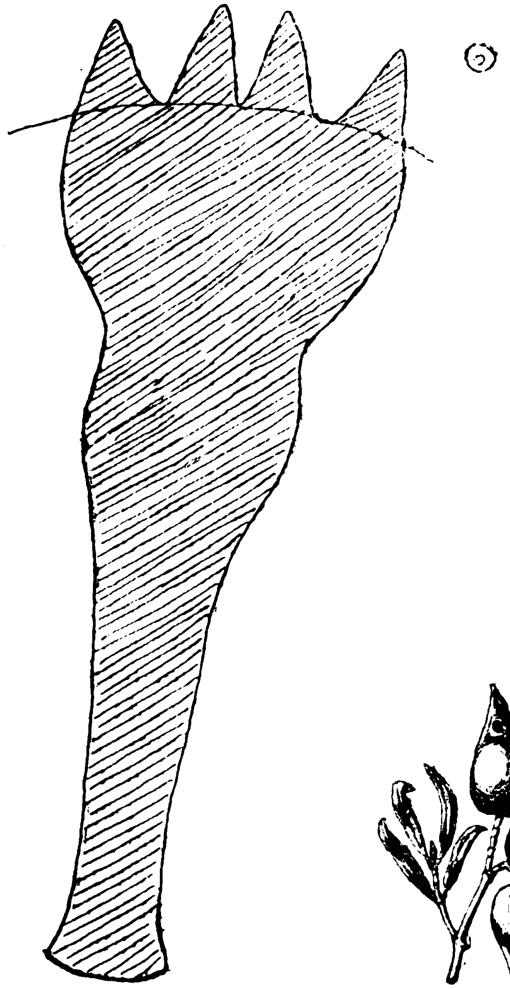


Fig. 5.

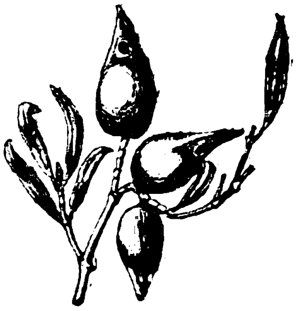


Fig. 6.

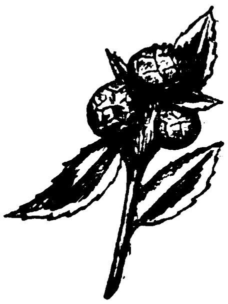


Fig. 7.

Fig. 5. Gräte von Angeiomyia auf Hydrangea.
Fig. 6. Gallen auf Myrteugenia stenophylla.
Fig. 7. Gallen auf Pernettyia furens.

Pernettya furens.

Galle (Fig. 7) in den Blattachseln oder an einer Triebspitze, aus einer Knospe gebildet, zuerst kuglig, 8—10 mm im Durchmesser erreichend, bei der Reife eirund oder länglich, 12 mm lang und 7 mm dick, außen aus queren, grünen, an den Rändern sehr fein gewimperten und sich dachziegelartig deckenden Schuppen zusammengesetzt. Der Durchschnitt zeigt am Grunde eine ziemlich harte, 2 mm hohe und fast ebenso dicke Achse, von welcher ringsum, wie in einer Knospe, die Schuppen ausgehen; das obere abgestutzte Ende dieser Achse ist im Zentrum schwach ausgehöhlt und trägt ringsum zahlreiche, aufrechte, bräunliche, lanzettliche, 6 mm lange Blättchen, welche die Larve umhüllen. Oftmals entspringen 2 oder 3 Gallen aus derselben Knospe; dann erleidet der Zweig selbst eine Deformation, indem er mehr oder weniger verdickt erscheint.

Larve dick, weiß, ohne Spatula und ohne Borsten, mit konvexen Gürtelwärzchen; Verrucae spiniformes klein und stumpf, auch auf der Dorsalseite vorhanden; Analsegment abgerundet, ohne Borsten; Papillae sternales, pleurales, ventrales und dorsales klein und undeutlich. Larve einzeln in der Galle.

Nymphe mit kleinen, spitzen Wärzchen, ohne Spinulae dorsales und ohne Aculei frontales; Stigmen des Thorax glashell, 4mal so lang wie dick, walzenrund, gerade, am Ende etwas eingekrümmt; Scheitelborsten kürzer als die Stigmen, doppelt so lang wie ihre Papille; Gesichtspapillen ohne Borste. Verwandlung in der Galle; die glashelle Puppenexuvie bleibt oben in der Galle zurück.

Imago. Pernettyella longicornis n. g. et n. sp. Rot; Flagellum bräunlich; drei Rückenbinden, ein Fleck auf der Innenseite am Grunde der Basalglieder der Zange, Endglieder der Zange, sowie die Lappen der oberen und der mittleren Lamelle schwarzbraun. Taster mit 4 langen Gliedern. Fühler 2 + 20-gliedrig; die 2 ersten Geißelglieder verwachsen; beim ♂ sind die ersten Geißelglieder zweimal so lang wie dick, die folgenden allmählich kleiner werdend, $1^1/_2$mal so lang wie dick, ellipsoidal, stielartiger Fortsatz halb so lang wie die Glieder; Endglied mit einem dicken, ellipsoidalen Fortsatz, der in der Mitte einige Borsten trägt; Borstenwirtel wenig länger als die Glieder. Beim ♀ sind die Geißelglieder ohne stielartigen Fortsatz, walzenförmig, kaum länger als dick; Endglied mit einem fast kugligen Fortsatz, welcher die Dicke des Gliedes erreicht. Flügel breit; Vorderrand mit schwarzen Schuppen; Cubitus in die Flügelspitze mündend, Randader nicht unterbrochen; vordere Zinke der 3. Längsader gerade, die Richtung des Stieles fortsetzend; hintere Zinke fast senkrecht absteigend; Querader undeutlich. Beine schwarz beschuppt; Krallen zweizähnig, unterer Zahn halb so lang wie der obere; Empodium etwas länger als die Krallen; Pulvillen fehlend. Legeröhre lang hervorstreckbar; Endglied nur um die Hälfte länger als dick, doppelt so lang als das basale Läppchen. Zange groß und dick; Endglieder schwach gebogen, dreimal so lang wie dick am Grunde, allmählich zugespitzt, ohne Klaue; die drei Lamellen zweilappig; die Lappen der mittleren Lamelle schmäler. Länge ♂ ♀: 3—4 mm. — Concepcion, im Januar.

Nachdruck verboten.

Zur Methodik der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung.

Von Dr. **Eduard Kohn,**

Assistenten an der deutschen Technischen Hochschule in Prag.

Die bis jetzt verwendete Methode der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung hat sich nur auf die Bestimmung der Zahl der Bakterien gestützt.

Flügge1) berichtet: „In der Regel beobachtet man in reinem

---

1) Flügge, Grundriß der Hygiene. 3. Aufl. Leipzig 1894. p. 192.

Leitungs- und Quellwasser 2—50 Bakterien in 1 ccm, in reinen Pumpbrunnen 100—200—500, in filtriertem Flußwasser 50—200, in unfiltriertem Flußwasser (rein gehaltener Flüsse) 6000—20000, in verunreinigten Brunnen bis zu 100000, im Kanalwasser oder in stark verunreinigten Flußläufen 2—40 Millionen Bakterien in 1 ccm. Diese Art der Untersuchung kann keine sicheren Anhaltspunkte für die Beurteilung eines Wassers geben, denn es kommen bei Anwendung der Koch schen Plattenkulturen nicht alle in dem betreffenden Wasser lebenden Formen zur Entwickelung. Ich habe zunächst, wie aus den nachfolgenden Resultaten hervorgeht, mich überzeugen wollen, was für einen Einfluß die Art, chemische Reaktion, die bei der Entwickelung herrschende Temperatur auf den Keimreichtum hervorbringt. Als den geeignetesten Nährboden, der für diese Art der Untersuchung die höchste Keimzahl zuläßt, hat J. Thomann[1]) auf Grund seiner Erfahrungen einen Nährboden von folgender Zusammensetzung angegeben:

Fleischextrakt Liebig	6 g
Pepton Witte	10 „
Kochsalz	5 „
Dikaliumphosphat	2 „

werden in 1000 g destilliertem Wasser auf dem Dampfbade gelöst und dieser Lösung 100—120 g (je nach der Jahreszeit) Gelatine zugefügt. Nach Auflösung der letzteren wird mit NaOH neutralisiert (Indikator: empfindliches Lackmuspapier) und der neutralen Flüssigkeit 1,5 g kristallisierter Soda zugeführt (= 15 ccm einer 10-proz. Sodalösung). Ich habe bei der Prüfung der Eignung verschiedener Nährböden gefunden, daß diese Angaben nicht ganz richtig sind. Thomann stützt sich bei Zugabe von Natriumkarbonat auf eine Arbeit von Dahmen[2]). Dieser stellte nach Tabelle I fest, daß das Maximum der Keimzahl bei einem Sodagehalte von 0,15 Proz. liegt. Von dem letzteren Sodagehalte abfällt die Keimzahl mit steigender Alkalinität wieder, und es hört bei einem Gehalte von 2—3 Proz. Soda jede Bakterienentwickelung auf.

Tabelle I.

Natriumkarbonat	0,1047	Proz.	Keime	pro	1	ccm	122
„	0,1142	„	„	„	1	„	189
„	0,1237	„	„	„	1	„	262
„	0,1332	„	„	„	1	„	553
„	0,1428	„	„	„	1	„	672
„	0,1523	„	„	„	1	„	687
„	0,1618	„	„	„	1	„	680

Wie aus Tabelle II hervorgeht, wird bei Anwendung der Thomannschen Nährlösung das Maximum nach den von mir gewonnenen Resultaten bei einer Sodazugabe von 0,08 Proz. liegen, nach vorheriger genauester Neutralisation mit Natronlauge. Bemerken will ich, daß die von mir verwendete Soda bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde. Für die häufigsten Fälle wird man sogar mit einer Nährlösung, die genau neutralisiert wurde, ohne Sodazusatz ganz befriedigende Resultate erreichen.

(Siehe Tabelle II p. 128.)

Von Wichtigkeit bei Erzielung von möglichst konstanter Zahl der Keime ist die Anwendung von Gelatine oder Agar bei der Bereitung des

---

1) Thomann, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 796.

2) Dahmen, Chemiker-Zeitung. Bd. XVI. 1892. No. 49; siehe auch Lafar, Handbuch d. techn. Mykologie. Bd. III. 1906. p. 337.

Tabelle II.

Bezeichnung der Wasserproben	Thomannsche Nährlösung genau neutralisiert	Th. N. n. + 0,013 Proz. Na_2CO_3	Th. N. n. +0,0525 Proz. Na_2CO_3	Th. N. n. +0,0815 Proz. Na_2CO_3	Th. N. n. +0,1435 Proz. Na_2CO_3
	Keime pro 1 ccm	Keime pro 1 ccm	Keime pro 1 ccm	Keime pro 1 ccm	Keime pro 1 ccm
1) Wasser v. Schloßberg in Prag VIII	216	228	260	284	208
2) Wasser aus Eisenstein	328	330	380	387	340
3) Wasser aus Pilsen	400	400	471	468	430
4) Wasser aus Dauba	376	369	394	407	362
5) Wasser aus No. 433 in Prag VIII	1576	1606	1646	1684	1600

Die mittlere Temperatur war 18,5° C.

Nährbodens und die mittlere Temperatur, bei welcher die Keimung vor sich geht. Die Tabellen III und IV geben ein deutliches Bild dieser wichtigen Tatsachen, von denen besonders die letztere noch gar nicht gewürdigt wurde.

Die Nährlösung bestand aus 3 Proz. Traubenzucker, 3 Proz. Pepton, 1 Proz. Fleischextrakt und 1 Proz. Agar resp. 10 Proz. Gelatine, genau neutral.

Tabelle III.

Bezeichnung der Wasserprobe	Agar Keime pro 1 ccm	Gelatine Keime pro 1 ccm
1) Wasser v. Schloßberg in Prag VIII	280	342
2) Wasser aus Eisenstein	314	517
3) Wasser aus Pilsen	394	548
4) Wasser aus Dauba	362	487
5) Wasser aus No. 433 in Prag VIII	1471	1843

Die Auszählung geschah am 4. Tage.
Die mittlere Temperatur war 22,4 °C.

Tabelle IV.

Bezeichnung der Wasserprobe	Gelatine Temperatur 15,3 °C Keime pro 1 ccm	Gelatine Temperatur 21,3° C Keime pro 1 ccm	Gelatine Temperatur 28,2 °C Keime pro 1 ccm
1) Wasser v. Schloßberg in Prag VIII	205	318	384
2) Wasser aus Eisenstein	309	342	391
3) Wasser aus Pilsen	381	476	531
4) Wasser aus Dauba	295	584	681
5) Wasser aus No. 433 in Prag VIII	1376	1884	2137

Die Auszählung erfolgte am 5. Tage.

Aber auch die Probeentnahme und die Zeit, die zwischen dieser und der folgenden Untersuchung verstreicht, hat auf die Keimzahl einen wesentlichen Einfluß. Man hat bald eingesehen, daß diese Art der Untersuchung nicht genügt, und wollte auf die Art der isolierten Mikroben Rücksicht nehmen, indem man von der falschen Voraussetzung ausging, daß, je schlechter ein Wasser, desto mehr Arten zur Entwickelung kämen.

Daß diese Behauptung völlig unzutreffend ist, hatte ich selbst Gelegenheit zu beweisen, indem ich bei der Untersuchung von Moldau-Leitungswasser zunächst eine Ueberwucherung eines einzigen Bacillus nachweisen konnte, und man kann bei Moldauwasser wohl von keinem guten Wasser sprechen. Es kam noch ein Vorschlag zur Anwendung. Man möge die die Gelatine verflüssigenden Arten für die Beurteilung eines Wassers heranziehen.

Der Wert dieser Methode ist ein sehr problematischer, denn wir kennen unter den peptonisierenden Arten auch ganz unschädliche Wasserbewohner. In meiner früheren Arbeit[1]) konnte ich die Erfahrung machen, daß in einem schlechten Wasser, also in einem solchen, welches reich an organischen Stoffen ist, Formen zur Entwickelung gelangen, die an diese Verhältnisse angepaßt und deren Minimum an Traubenzucker, welches zum guten Gedeihen notwendig, ein relativ hohes ist. Während für das Maximum auch dieselben Verhältnisse gelten, zeigen Mikroben, aus reinem Trinkwasser isoliert, ein entgegengesetztes Verhalten, also sowohl Minimum und Maximum an Traubenzucker, relativ niedrig. Mein früherer Chef, Herr Prof. Czapek, stellte mir die Aufgabe, ob sich diese feststehenden Tatsachen nicht für die Ausarbeitung einer neuen Methode der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung verwerten ließen.

Es galt zunächst die Untersuchung vieler Wasserproben, wobei ich bei der Entnahme solcher in Böhmen den geologischen Verhältnissen Rechnung trug. Das Interesse konzentrierte sich zunächst auf die zuerst isolierten Formen, von denen das Minimum und Maximum an Traubenzucker festgestellt wurde. Zu gleicher Zeit wollte ich die Frage gelöst wissen, ob es sich bei derartigen Untersuchungen empfiehlt, die Probe m direkten Zustande zur Verwendung zu bringen, oder ob eine Verdünnung im vorhinein den Florenzustand nicht wesentlich ändert.

1) Wasser vom Schloßberge in Prag VIII.
(Probe direkt untersucht.)

Mittelgroße Kokken, meist in Ketten vorkommend. Entwickelt sich erst in 4—5 Tagen an der Oberfläche der Gelatine, dabei violette plastische Kolonieen bildend. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar ist die blaue Färbung besonders schön, während die Kartoffelkulturen nur eine beschränkte Auflagerung zeigen. Die Färbbarkeit nach Gram gelingt. In älteren Kulturen ist ein schwacher Trimethylamingeruch nachzuweisen (Heringslake). Es ist der in F. Cohns Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. Bd. I. Heft 2. p. 155 beschriebene „Micrococcus violaceus[2]).

Traubenzucker-Minimum = 0,0792 $\mu\gamma$
„ -Maximum = 10 Proz.

Kurze Stäbchen mit geringer Eigenbewegung und Luftbedürfnis. Auf der Gelatine bilden sich in 2—3 Tagen blätterförmige Kolonieen von zitronengelber Farbe, später wird dieser Belag schleimig. Die Farbe ist am intensivsten in der Mitte und nimmt gegen die Peripherie einen blaßgelben Ton an, dabei erscheinen die Ränder höckerig. In Milch überimpft, bildet sich an der Oberfläche eine gelbe Haut, wobei der ganze

---

[1]) Zur Biologie der Wasserbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 690.)

[2]) Siehe auch Adametz, Mitteilung der österreichischen Versuchsstation f. Brauerei u. Mälzerei. Wien 1888. p. 48.

Inhalt zitronengelb erscheint. Auf Kartoffeln ist die Farbe orangerot. Die Agarkulturen zeigen nur einen schwachgelben Farbenton.

Bacillus luteus[1]).

Traubenzucker-Minimum 0,792 μγ
„ -Maximum 12 Proz.
Die organische Substanz des Wassers = 47,4 mg pro 1 Liter.

Der Florenzustand änderte sich erst am 8. Tage, da war Micrococcus violaceus nicht mehr aufzufinden, an seine Stelle trat die bei anderer Gelegenheit von mir isolierte rote Sarcina (Traubenzucker-Minimum = 7,92 μγ, Maximum 15 Proz.). In dem nun folgenden Verdünnungsversuche, wo 1 ccm der Originalprobe mit 1000 ccm destillierten sterilen Wassers verdünnt wurde, war zunächst das Vorhandensein von Bacillus luteus und der roten Sarcina zu bemerken. Dieses Bild erhielt sich 11 Tage konstant, von diesem Tage an war dann nur Micrococcus violaceus aufzufinden.

2. Wasser vom Kinskygarten in Prag-Smichow (entnommen von der oberen Quelle).

Direkte (unverdünnte) Probe.

Kurze dünne Stäbchen ohne Eigenbewegung. Auf der Gelatine erscheinen die Kolonieen nach 3 Tagen an der Oberfläche wachsend und im durchfallenden Lichte bläulich perlmutterglänzend. Nach einiger Zeit zeigt der Inhalt der Gelatineröhrchen deutliche Fluoreszenz. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar ist die Fluoreszenz noch viel intensiver. Auf Kartoffelscheiben bildet sich nach einigen Tagen eine schmutziggraue Haut. Es ist der von Eisenberg in Wasser gefundene

Bacillus aquatilis fluorescens[2]).

Traubenzucker-Minimum 0,00792 μγ
„ -Maximum 9 Proz.

Mittelgroße Stäbchen mit Eigenbewegung. Aërobium. Die Kolonieen auf Gelatine sind weiß, mit feinkörnigem Rande und verflüssigen dieselbe sehr rasch, einen weißen Bodensatz und eine Haut bildend.

Auf Agar ist ein geringer grauweißer Belag zu konstatieren, welcher auf Kartoffeln eine gelbbraune, ins Rötliche spielende Nuance annimmt. Die Färbung nach Gram gelingt nicht.

Bacillus aquatilis communis[3]),
identisch mit Franklands: Bacillus liquidus[4]).

Traubenzucker-Minimum 0,792 μγ
„ -Maximum 15 Proz.
Die organische Substanz des Wassers = 44,24 mg pro 1 Liter.

Dieses Bild erhielt sich durch 10 Tage konstant; am 11. Tage war Bacillus aquatilis fluorescens nicht mehr aufzufinden, und es trat die rote Torula auf.

Der Verdünnungsversuch (1 ccm in 1000 ccm destillierten sterilen Wassers) ergab das Vorhandensein von Bacillus aquatilis fluorescens, roter Torula und von etwas Bacillus aquatilis communis durch 7 Tage.

---

[1] List, Untersuchungen über die in und auf dem Körper des gesunden Schafes vorkommenden niederen Pilze. [Inaug.-Dissert.] Leipzig 1885.

[2] Lustig, Die Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1893. p. 64.

[3] Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 315.

[4] Zeitschrift für Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. VI. p. 382.

Rote Torula hat Traubenzucker-Minimum 0,792 μγ
„ -Maximum 15 Proz.

3. Wasser aus No. 433 in Prag VIII.

Vergleichsweise wurde dieses Wasser aus dem Brunnen eines Hauses entnommen, welcher durch seine Lage schon auf verunreinigtes Wasser schließen ließ.

Direkte (unverdünnte) Probe.

Kleines, dickes Stäbchen ohne Eigenbewegung. Die Kolonieen auf Gelatineplatten waren in der Mitte etwas dunkler gefärbt und von einem weißen Tone umgeben. Die Gelatineröhrchen zeigten eine grünliche Fluoreszenz, aber keine Verflüssigung. Auf Agar schöne Fluoreszenz, auf der Oberfläche ein weißer Belag, später grauweiß werdend. Aërobier. Indolbildung nachgewiesen.

Bacillus fluorescens immobilis[1]).

Traubenzucker-Minimum 0,792 μγ
„ -Maximum 15 Proz.

Kurzer Bacillus, mit sehr geringer Eigenbewegung. Keine Fadenbildung. Auf Gelatineplatten erscheinen dünne, bläuliche, scheibenförmige Kolonieen, deren Ränder gezackt erscheinen. Die Mitte der Kolonieen zeigt eine dicke Auflagerung. Mit der Lupe betrachtet, sieht man eine charakteristische Anordnung von Furchen, so daß die Ränder höckerig erscheinen. Das Bild ist in den Gelatineröhrchen genau dasselbe, und es ist längs des Stichkanals die Entwickelung von weißen Pünktchen zu beobachten.

Auf Agar erscheint nach kurzer Zeit ein dichter, glänzender, schmutzigweißer Belag. Die Kartoffelscheiben zeigen längs der Oberfläche eine gelblichgraue Auflagerung. Milch wird koaguliert. Indolbildung.

Bacillus (Bacterium) coli communis[2]).

Dieser Mikrobe wird von Emmerich als Bacillus Neapolitanus (Archiv f. Hygiene. Bd. III. p. 297), von Passet als Bacillus pyogenes foetidus (Fortschr. d. Medizin. p. 85) bezeichnet; er ist auch unter dem Namen „Faecesbacillus“ und „Kolonbacillus“ bekannt.

Traubenzucker-Minimum 792 μγ
„ -Maximum 18 Proz., noch Wachstum.

Kurze, dicke, sehr bewegliche Stäbchen mit Luftbedürfnis. In 2 Tagen erscheinen auf Gelatineplatten runde gekörnte, gelbliche Kolonieen. Die Verflüssigung geht rasch vor sich unter Bildung eines Häutchens, welches im durchfallenden Lichte mit blaugrüner Farbe schillert. Auf Agar ist ein weißer, glänzender, schleimiger Belag zu konstatieren. Auf Kartoffeln ist die Auflagerung gelblichweiß.

Bacillus cloacae[3]).

Traubenzucker-Minimum 7920 μγ
„ -Maximum 18 Proz., noch Wachstum.
Organische Substanz des Wassers 102,7 mg pro 1 Liter.

---

1) Matzuschita, Bakteriolog. Diagnostik. 1. Aufl. 1902. p. 488.
2) Escherich, Fortschr. d. Medizin. 1885. No. 16 u. 17.
3) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. II. 1896. p. 315.

Durch 5 Tage war die Florenzusammensetzung eine konstante, am 6. Tage war der Bacillus cloacae nicht mehr zu isolieren.

Die Probe des verdünnten Wassers ergab schon bei dem ersten Versuche das Fehlen des Bacillus cloacae. Am 8. Tage konnte auch Bacillus coli communis nicht mehr entdeckt werden.

4. Wasser aus der Schloßquelle von Schlackenwerth bei Karlsbad.

Direkte Probe.

Kurze dicke Stäbchen in Filamenten. Eigenbewegung. Die Kolonieen erscheinen erst nach 5 Tagen und sind nagelkopfartig hellorange gefärbt. Die tiefer gelegenen Kolonieen erscheinen auf Gelatineplatten gekörnt. Die Auflagerung auf Agar und Kartoffeln ist orangegelb. In flüssigen Nährböden ist das Vorhandensein eines anfänglich hellgelben, später dunkelgelben Häutchens zu konstatieren. Es bildet sich auch ein orangegelber Bodensatz.

Bacillus aurantiacus[1]).

Traubenzucker-Minimum 7,92 μγ
„ Maximum 15 Proz. noch Wachstum

Es konnte noch isoliert werden:

Ein Bacillus bestehend aus kurzen Stäbchen, wie Bacillus fluorescens non liquefaciens bezw. Bacillus fluorescens liquefaciens nur sind die Kolonieen auf Gelatine, Kartoffeln und Agar ockergelb. Eine schöne grüne Fluorescens ist nachzuweisen. Eigenbewegung und Luftbedürfnis ist vorhanden.

Bacillus fluorescens aureus[2])

Minimum an Traubenzucker 0,00792 μγ
Maximum: 10 proz. Lösnng

außerdem war noch die weiße Sarcina vorhanden.

Diese Zusammensetzung änderte sich schon nach 8 Tagen, wo der Bacillus aurantiacus nicht mehr und der Bacillus fluorescens aureus nur sehr wenig vorhanden war, nach 14 Tagen hatte die weiße Sarcina beide überwuchert.

1 ccm mit 1000 ccm destillierten sterilen Wassers verdünnt:

Es waren alle 3 Formen, wie in der unverdünnten Probe, vorhanden, nur war schon am 5. Tage die weiße Sarcina zu finden. Organische Substanz 32,0 mg.

5. Die Probe entnommen aus dem Brunnen des „Hotel Engel“ in Dauba am 7. Juli 1906, ergab:

Kleine, sehr bewegliche Stäbchen. Luftbedürfnis. Die Gelatine wird sehr schnell verflüssigt, dabei bilden sich schalenförmige Vertiefungen, und treten Gasblasen auf. Erst bei 40° C nicht mehr entwickelungsfähig[3]). Auf Agar und Kartoffeln ist eine schwache Entwickelung eines weißen Belags nur an der Impfstelle zu bemerken:

Bacillus gasoformans, gasogener Bacillus[4]).

Minimum an Traubenzucker 0,00792 μγ
Maximum: 8-proz. Traubenzuckerlösung

Kokken von gewöhnlicher Größe. Auf Gelatine erscheinen schon am 3. Tage kleine Kolonieen, die die Gelatine verflüssigen. Sie bilden einen feingesägten Rand und später erscheint auf der Flüssigkeit eine Haut von schmutziggelber Farbe. Auf Agar und Kartoffeln entsteht eine hellgelbe Auflagerung.

---

[1] Frankland, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. VI. p. 390.

[2] Zimmermann, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer, insbesondere des Wassers der Chemnitzer Wasserleitung, 1890 u. 1894. Bd. I. p. 14.

[3] Eisenberg fand schon bei 37° C kein Wachstum.

[4] Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik. 3. Aufl. Hamburg 1891. p, 84.

Micrococcus lutosus[1]).

Minimum an Traubenzucker 0,00792 μγ
Maximum „ „ 8 Proz.

Außerdem war vorhanden: weiße Sarcina und rote Torula.

Nach 8 Tagen waren der Bacillus gasoformans und Micrococcus lutosus nur noch spärlich vorhanden und nach 3 Wochen nicht mehr aufzufinden. Organische Substanz 40 mg pro 1 l.

Die Verdünnungsprobe ergab dasselbe Bild, nur war schon nach 8 Tagen nur die weiße Sarcina und rote Torula vorhanden.

6. Wasser von Hirschberg „Hotel Stern“.

Ziemlich große schlanke Stäbchen mit Eigenbewegung. Auf Gelatineplatten erscheinen die Kolonieen erst am 5. Tage in Form von Scheiben, dessen Zentrum dunkel gefärbt, dessen Rand eine fleischrote Farbe besitzt. Die Gelatineröhrchen werden bald trichterförmig verflüssigt unter Bildung eines fleischfarbenen Belags am Boden des Verflüssigungstrichters. Auf Agar bildet sich zunächst eine schmutzigweiße, in 8 Tagen schon deutlich rote Auflagerung. Auf Kartoffeln tritt nach 8 Tagen ein dicker hellroter metallisch glänzender Belag auf, der mit der Zeit, dunkler von fleischroter Farbe ist.

Dieser Bacillus ist der von Zimmermann[2]) und Tils[3]) beschriebene:

Bacillus carnosus, fleischfarbiger Bacillus.

Traubenzucker-Minimum 0,000792 μγ
„ Maximum 10 Proz.

Kurze dünne Stäbchen mit Eigenbewegung. Auf Gelatineplatten erscheinen schon am 3. Tage unregelmäßig ausgebreitete Kolonieen, die am 8. Tage schöne Fluoreszenz zeigen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Kolonieen auf Agar haben nicht eine solche Ausbreitung, die Fluoreszenz ist sehr schön.

Nach 14 Tagen verfärbt sich der Belag hellbraun. Auf Kartoffeln entsteht zunächst eine gelbliche, dann braune Auflagerung.

Bacillus fluorescens fuscus[4]).
(Bacillus oogenes fluorescens).

Minimum an Traubenzucker 0,000792 μγ
Maximum „ „ 15 Proz.

Kleine Kokken ohne eigene Bewegung. Auf Gelatine erscheinen am 5. Tage sternförmige Kolonieen. Von einem Zentrum gehen feine Aeste aus, die sich an der Spitze verzweigen. In Gelatineröhren ist die Entwickelung anfangs nur an der Oberfläche, dann gehen von dem Punkte Strahlen von Zweigen nach allen Richtungen aus. Die Gelatine nimmt mit der Zeit eine gelbbraune Farbe an und wird nicht verflüssigt. Auf Agar entstehen die sternförmigen Verzweigungen erst nach eingen Tagen, während auf Kartoffeln sich eine bräunliche schleimige Haut erst nach 14 Tagen bildet.

---

1) **Kern**, Arbeiten aus dem Bakteriologischen Institut der Technischen Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. p. 489.

2) **Zimmermann**, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer, insbesondere des Wassers der Chemnitzer Wasserleitung. Chemnitz 1890 u. 1894. Bd. II. p. 4.

3) **Tils**, Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. IX. p. 294.

4) **Zörkendorfer**, Archiv f. Hygiene. Bd. XVI. p. 394.

Coccus stellatus[1]), Micrococcus sellatus[2]).

Minimum an Traubenzucker 0,0792 μγ
Maximum „ „ 15 Proz.

Außerdem war noch der Bacillus aquatilis fluorescens vorhanden. Erst in 3 Wochen änderte sich das Bild, indem nur der Bacillus aquatilis fluorescens und die weiße Sarcina, die erst jetzt zur Bildung gelangte, isoliert werden konnte.

In dem Verdünnungsversuche war der Bacillus carnosus, Bacillus fluorescens fuscus und die weiße Sarcina vorhanden und konnte schon am 5. Tage nur die weiße Sarcina neben dem Bacillus aquatilis fluorescens jetzt erst erschien, nachgewiesen werden. Organische Substanz 54,3 mg pro 1 Liter.

7. Wasser aus dem Dorfe Kirchen-Lhota bei Nimburg.

Direkte Probe.

Ziemlich schlanke Stäbchen mit Eigenbewegung und Luftbedürfnis. Auf Gelatine und Agar erscheinen nach 8 Tagen kleine goldgelbe Kolonieen, die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln erscheint Wachstum nur an der Impfstelle.

Bacillus chryseus, goldgelber Wasserbacillus[3]).

Minimum an Traubenzucker 792 μγ
Maximum „ „ 15 Proz.

Außerdem war noch vorhanden: Bacillus fluorescens immobilis und die weiße Sarcina

Nach 14 Tagen waren nur letztere 2 Arten zu isolieren.

In der verdünnten Probe waren nur der Bacillus fluorescens immobilis und die weiße Sarcina noch in der 3. Woche aufzufinden. Die organische Substanz war: 83,2 mg pro 1 Liter.

8. Wasser aus dem „Bade“ bei Sadska.

Dieses Wasser entstammt einer Quelle, welche durch ihre Heilwirkung in dieser Gegend bekannt ist. Ich konnte bei der chemischen Untersuchung nur einen auffallend hohen Eisengehalt feststellen.

Direkte Probe.

Feine kurze Stäbchen ohne Eigenbewegung. Auf der Gelatine erscheinen schon am 3. Tage runde porzellanweiße, perlmutterglänzende Kolonieen, welche nicht verflüssigen. Schön milchweiß sind die Auflagerungen auf Agar. Auf Kartoffelscheiben entsteht ein schmutzigweißer, nicht ausgebreiteter Belag, der sich nach 3—4 Wochen etwas bräunt. Auf der Oberfläche der Kartoffeln entstehen Gasbläschen. Der Geruch der Kulturen ist ein aromatischer.

Bacillus albus gasoformans, weißer Bacillus[4]).

Traubenzucker-Minimum 7,92 μγ
„ Maximum 10 Proz.

Außerdem waren aber erst am 5. Tage erschienen: der Bacillus flavens[5]), am 8. Tage die rote Torula. In der Verdünnungsprobe war kein Unterschied zu bemerken. Bacillus flavens war nicht zu finden. Organische Substanz 52,2 mg pro 1 Liter.

---

[1] Lustig, Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1893. p. 40.

[2] Maschek, Jahresbericht der Kom.-Oberrealschule in Leitmeritz. 1887. p. 62.

[3] Adametz, Mitteilung der österr. Versuchsstation f. Brauerei und Mälzerei in Wien. 1888. p. 49.

[4] Rataroff, Die Dorpater Wasserbakterien. [Inaug. Diss.] Dorpat. 1891 p. 35.

[5] Zur Biologie der Wasserbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 690.)

9. Waldquelle „Borek“ bei Sadska.

Kleine Stäbchen mit abgerundeten Enden. Aërobium. Keine Eigenbewegung und keine Verflüssigung der Gelatine. Auf den Platten bilden sich Kolonieen von knopfförmiger Gestalt und von brauner Farbe. Diese Kolonieen treten schon am 2. Tage auf. Die Farbe ist in der Mitte dünkler braun und ist der Rand etwas heller und glänzend. Die Kulturen auf Agar sehen etwas größer aus, während sie auf Kartoffeln schlecht gedeihen.

Bacillus fuscus[1]), nach Flügge identisch mit dem „Bacterium brunneum.

Mrnimum an Traubenzucker 0,000792 μγ
Maximum „ „ 8 Proz.

Außerdem waren vorhanden: Bacillus subtilis und später die rote Torula. Nach 14 Tagen trat eine Ueberwucherung des Bacillus subtilis ein und es konnten nur einige spärliche Kolonieen der roten Torula beobachtet werden. Die organische Substanz betrug: 42,2 mg pro 1 Liter.

In der Verdünnungsprobe waren nur sehr spärliche Kolonieen des Bacillus fuscus nachzuweisen. Dagegen war der Bacillus subtilis und die rote Torula in großer Zahl vorhanden. Nach 3 Wochen konnte nur der Bacillus subtilis gefunden werden.

10. Wasser aus Eisenstein (Böhmerwald, Ringplatzquelle).

Ziemlich große Stäbchen, oft in Filamenten mit geringer Eigenbewegung. Auf Gelatineplatten entstehen schon am 4. Tage kleine rundliche gelbe Kolonieen, welche die Gelatine schon am 5. Tage trichterförmig verflüssigen. Am Grunde des Verflüssigungstrichters bildet sich ein blaßgelber Niederschlag, der mit der Zeit gelbbraun wird. Auf Agar sind die Kolonieen rund, später mit höckerigen Rändern, die Farbe ist okergelb. Auf Kartoffeln ist die Vegetation besonders üppig und von braungelber Farbe.

Bacillus ochraceus[2]) u. [3]).

Traubenzucker-Minimum 0,000792 μγ
„ -Maximum 5 Proz.

Dann war noch der Bacillus fluorescens immobilis und der Bacillus violaceus nachzuweisen.

In der verdünnten Probe war nur der Bacillus ochraceus und der Bacillus fluorescens immobilis aufzufinden. Der Bacillus violaceus konnte auch nicht nach 14 Tagen entdeckt werden. Organische Substanz 30,0 mg pro 1 Liter.

11. Wasser aus dem Pilsener Bahnhofe.

Kurze Stäbchen in Filamenten mit Eigenbewegung. Die Kolonieen auf der Gelatine sind zunächst gelblich und sind mit einem rötlichen Saume umgeben. Schon am 4. Tage ist die Gelatine verflüssigt, wobei sich an der Oberfläche eine rostrote faltige Haut bildet, während nach 14 Tagen sich ein gelbroter Bodensatz zeigt. Auf Agar ist das Wachstum nur ein sehr beschränktes von gelber Farbe. Dagegen überzieht sich die ganze Oberfläche der Kartoffeln schnell mit einem rostroten Belag.

---

[1]) **Lustig**, Diagnostik der Bakterien des Wassers. 2. Aufl. 1895. p. 55.

[2]) **Zimmermann**, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer, insbesondere der Chemnitzer Wasserleitung. 1890 und 1894. p. 60.

[3]) **Fazio**, I microbi delle acque minerali. Neapel 1888.

Bacillus ruber berolinensis[1]).

Traubenzucker-Minimum 7,92 μγ
„ -Maximum 5 Proz.

Es waren noch nachzuweisen der Bacillus violaceus, der nach 3 Wochen die Kulturen überwucherte und auf den Platten einen schönen violetten Bodensatz erzeugte der Bacillus aquatilis fluorescens.

In der Verdünnungsprobe war zunächst nur der Bacillus aquatilis fluorescens nachzuweisen. In der 4. Woche war er durch den Bacillus violaceus verdrängt, welcher dann allein vorherrschte und welcher dann selbst wieder der weißen Sarcina Platz machen mußte, die in der 7. Woche allein da war. Die organische Substanz 85,2 mg pro 1 Liter.

Wasser von Furth i. W. (Hotel Post).

Kleine Stäbchen, ziemlich schlank, mit Eigenbewegung. Die Kolonieen auf Gelatine sind charakteristisch, indem von einem dunklen Zentrum radiale Strahlenbüschel nach dem Rande auslaufen. Das Zentrum ist etwas bräunlich gefärbt, während der Rand schmutzig-weiß erscheint.

Auf Agar erscheinen auch von einem Zentrum feine Ausläufer und ist die Auflagerung mehr von gelblicher Farbe. Die einzelnen Radialstreifen sind gegen die Peripherie keulenartig verdickt.

Auf Kartoffeln entsteht ein schmutzig-weißer Belag.

Bacillus stolonatus[2]).

Traubenzucker-Minimum 0,0792 μγ
„ -Maximum 10 Proz.

Dünne Spirillen bis mit 6 Windungen. Auf der Gelatine entsteht zunächst ein dunkler Kern, der von einem grauen Hofe umgeben ist. Die Gelatine wird in einigen Tagen verflüssigt. Im Stichkanal bilden sich weißglänzende Fäden, die sich büschelförmig ausbreiten. Charakteristisch ist das schnelle Eingehen der Kulturen auf Gelatine und Agar. Nach 4 Tagen ist das Maximum der Bakterienmasse erreicht, von da ab wird das Volumen immer kleiner und in 14 Tagen ist auf der Nährlösung fast gar nichts mehr zu sehen. Die Agaroberfläche sieht dann aus, wie wenn es sterile Röhrchen wären und es ist außer der Verflüssigung nichts zu merken.

Am 4. Tage sind die Kolonieen auf Agar sehr charakteristisch. Sie sind farblos, mit einem etwas gelben Stich, während um die Kolonieen herum ein dunkler Ring vorhanden ist.

Auf Kartoffeln ist das Wachstum nur auf die Impfstelle begrenzt.

Es dürfte sich um:

Spirillum subtilissimum[3])

handeln.

Traubenzucker-Minimum 0,000792 μγ
„ -Maximum 8 Proz.
organ. Substanz 58,3 mg pro 1 Liter

Es war noch der Bacillus fluorescens immobilis vorhanden.

Dieses Bild war noch 14 Tage konstant, dann kam noch die weiße Sarcina hinzu.

In der Verdünnungsprobe war noch am 3. Tage der Bacillus stolonatus sehr stark, Spirillum subtilissimum sehr spärlich

---

[1] Fraenkel, Grundriß der Bakterienkunde. Berlin 1887. p. 185.

[2] Adametz und Wichmann, Mitteilung der österr. Versuchsstation f. Brauerei und Mälzerei in Wien. 1888. p. 44.

[3] Kutscher, Spirillum No. 1. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XX. p. 55.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

vorhanden. Dazu kamen einige Kolonieen von **Bacillus fluorescens immobilis**. In 8 Tagen konnte man nur den **Bacillus fluorescens** und die weiße **Sarcina** nachweisen.

13. **Wasserprobe aus Nürnberg** (Hotel Rheinischer Hof).

Große Kokken, gewöhnlich mehrere beisammen, ohne Eigenbewegung und mit Luftbedürfnis. Auf Gelatineplatten erscheinen die Kolonieen erst am 9. Tage vollkommen ausgebildet, dann sind sie von schöner ziegelroter Farbe. In Gelatinestichkulturen findet man längs des Stichkanals isolierte kleine weiße Kolonieen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Agar entsteht eine hellrote, später zinnoberrote, metallisch glänzende Auflagerung. Auf Kartoffeln kann erst bei 14-tägigem Stehen ein zinnoberroter Belag konstatiert werden.

Micrococcus cinnabarinus Zimmermann.
Micrococcus cinnabareus Flügge1).

Traubenzucker-Minimum 7,92 μγ
„ -Maximum 15 Proz.
organische Substanz 72,4 mg pro 1 Liter

Außerdem war noch vorhanden: **Bacillus fluorescens** und nach 14 Tagen noch die rote **Torula** und weiße **Sarcina**.

In dem Verdünnungsversuche war neben dem **Micrococcus cinnabareus** noch die weiße **Sarcina** und eine Veränderung erst in 3 Wochen zu konstatieren, da war nur die weiße **Sarcina** allein aufzufinden.

Wasser aus Bayreuth.

Ziemlich große Kokken in unregelmäßigen Haufen, ohne Eigenbewegung mit Luftbedürfnis. Auf Gelatineplatten erschienen schon am 3. Tage weiße, etwas ins Gelbliche spielende Kolonieen in Form von Scheiben. Diese Kolonieen wurden erst nach 8 Tagen groß und milchweiß. In Stichkulturen sind knopfartige Gebilde aufzufinden. Die Auflagerung auf Agar und Kartoffeln ist rein schneeweiß und metallisch glänzend.

Micrococcus candicans2).

Traubenzucker-Minimum 0,000792 μγ
„ -Maximum 5 Proz.
organische Substanz 42,4 mg pro 1 Liter

Es war noch die weiße **Torula** und die rote **Sarcina** zu isolieren gelungen.

In der Verdünnungsprobe war dasselbe Bild festzustellen und es war mehrere Wochen in beiden Proben keine nennenswerte Veränderung eingetreten.

Ich habe noch einige Wasserproben untersucht (eine Probe stammte aus München, eine aus St. Wolfgang etc.), es ist mir jedoch nicht gelungen, noch neue Formen zu isolieren.

Da ich im Verlaufe der geschilderten Versuche die Reihe der isolierten saccharophoben Formen vermehrte, ergänzte ich die frühere Arbeit „Weitere Beobachtungen über saccharophobe Bakterien“ 3) durch neue Versuchsresultate, die ich jetzt folgen lasse. Von den isolierten Formen wählte ich folgende aus:

---

1) **Zimmermann**, Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer etc. Chemnitz 1890 und 1894. Bd. I. p. 76. — **Flügge**, Die Mikroorganismen. 1896. Bd. II. 3. Aufl. p. 177.

2) **Flügge**, Die Mikroorganismen. 1896. Bd. II. 3. Aufl. p. 177.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 446.

Bacillus aquatilis fluorescens	**Bacillus fluorescens fuscus**
Bacillus fuscus	**Bacillus aquatilis communis**
Bacillus ruber berolinensis	**Bacillus gasoformans**
Micrococcus candicans	

Als Vergleichsmaterial nahm ich die Untersuchungen des Bacillus coli communis und Bacillus cloacae.

Die Mikroben wurden wieder in einer verdünnten Nährlösung mehrere Wochen hindurch kultiviert. Die Lösung bestand aus 1 Millimol Traubenzucker (= 0,198 g) und 0,5 Millimol Ammoniumphosphat (= 0,066 g) auf 100 ccm Wasser. Die mittlere Versuchstemperatur betrug 15,5° C. Es wurde auch hier ein Ueberimpfen dann vorgenommen, wenn sich durch Trübung Wachstum des Mikroben zeigte. Die Kontrolle wurde ebenfalls durch sterile Nährlösung von gleicher Zusammensetzung und destilliertes Wasser vorgenommen. (Siehe Tabelle V p. 139.)

1. Bacillus aquatilis fluorescens.

Millimolkulturen wurden zunächst auf Centimol-Traubenzuckerlösung überimpft, wobei keine Entwickelungsverzögerung bemerkt wurde. Der eingetretene Wachstumsbeginn war in beiden Fällen am 3. Tage zu konstatieren. Auch die Ueberimpfung auf $\frac{n}{75}$ oder 2,64-proz. Glukoselösung konnte keine Wachstumshemmung hervorrufen. Diese trat in markanter Weise erst auf einer $\frac{n}{50}$ oder 3,3-proz. Lösung ein, indem durch 9 Impfperioden das Wachstum erst mit dem 5. Tage begann. Erst nach 10 solchen Ueberimpfungen konnte ein Wachstum schon am 4. Tage und nach 12 Ueberimpfungen schon am 3. Tage erzielt werden.

Die Uebertragung einer Millimolkultur auf $\frac{n}{35}$ oder 5,66-proz. Zuckerlösung zeigte ein Aufgehen der Kulturen erst am 7. Tage, und zwar in der 1. Impfperiode; die folgenden 5 Perioden am 5. Tage in der 6.—14. Periode am 4. Tage.

Ueberimpfung der Millimolkulturen auf $\frac{n}{25}$ oder 7,92-proz. Traubenzuckerlösung (mit dem entsprechenden Ammoniumphosphatgehalt) in 3 Wochen kein Wachstum.

Beim Ueberimpfen auf Millimollösung erst am 8. Tage wieder Wachstum, dagegen bei der Impfung auf $\frac{n}{35}$-Lösung Wachstum schon am 5 Tage.

Die Rückgewöhnungsversuche ergeben sehr interessante Erscheinungen.

Es wurden von $\frac{n}{25}$ Molkulturen der 20. Impfperiode Abimpfungen auf $\frac{n}{1000}$- und $\frac{n}{50}$-Lösungen gemacht.

Das Wachstum auf der ersteren Lösung trat nur in der ersten Impfperiode am 8. Tage ein, schon in der zweiten Periode war ein Wachstum schon am 4. Tage und von da an am 3. Tage zu konstatieren.

In der $\frac{n}{50}$-Lösung war schon in der ersten Impfperiode Wachstum am 4. Tage und von da ab am 3. Tage zu beobachten.

2. Bacillus fuscus.

Bei der Ueberimpfung von Millimolkulturen auf eine Centimol-Glukoselösung zeigte sich nur in der 1. und 2. Impfperiode eine Wachstumshemmung. In der 3. Impfperiode war schon Wachstum am 2. Tage eingetreten. Auf der $\frac{n}{75}$-Lösung war noch in der 3. Impf-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle V.

	Org Subst. mg pro 1 l					
1. **Wasser vom Schloßberg in Prag VIII**	47,4	Micrococcus violaceus Traubenz.-Min. 0,0792 μγ „ Max. 10 Proz.	Bacillus luteus Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 12 Proz.	Rote Sarcina Traubenz.-Min. 7,92 μγ „ Max. 15 Proz.		
2. **Wasser v. Kinskygarten in Prag**	44,24	Bacillus aquatilis fluorescens Traubenz.-Min. 0 00792 μγ „ Max. 9 Proz.	Bacillus aquatilis communis Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15. Proz.	Rote Torula Traubenz.-Min. 0,792 „ Max. 15 Proz.		
3. **Wasser aus No. 433 Prag VIII**	102,7	Bacillus fluorescens immobilis Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Bacillus coli communis Tr.-Z.-Min. 792 μγ „ Max. in 18 Proz. noch Wachstum	Bacillus cloacae Tr.-Z.-Min. 7920 μγ „ Max. in 18 Proz. noch Wachstum		
4. Wasser aus der Schloßquelle in Schlackenwerth	32,0	Bacillus aurantiacus Traubenz.-Min. 7,92 μγ „ Max. in 15 Proz. noch Wachstum	Bacillus fluorescens aureus Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 10 Proz	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12. Proz.		
5. Wasser vom Hotel Engel, Dauba	40,0	Bac. gasoformans Tr.-Z.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 8 Proz.	Microc. lutosus Tr.-Z.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 8 Proz.	Weiße Sarcina Tr.-Z.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.	Rote Torula Tr.-Z.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	
6. Wasser vom Hotel Stern, Hirschberg	54,3	Bac. carnosus Tr.-Z.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 10 Proz.	Bac. fluoresc. fuscus Tr.-Z.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 15 Proz.	Microc. stellatus Tr.-Z.-Min. 0,0792 μγ „ Max. 15 Proz.	Bac. aquatil. fluoresc. Tr.-Z.-Min. 0,00792 μγ „ Min. 9 Proz.	Weiße Sarcina Tr.-Z.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.
7. Wasser a. Kirchen-Lhota	83,2	Bacillus chryseus Traubenz.-Min. 792 μγ „ Max. 15 Proz.	Bacillus fluorescens immobilis Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.		
8. Wassser v. „Bad“ bei Sadska	52,2	Bacillus albus gasoformans Traubenz.-Min. 7,92 μγ „ Max. 10 Proz.	Bacillus flaveus Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Rote Torula Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.		
9. Waldquelle „Borek“ bei Sadska	42,2	Bacillus fuscus Traubenz.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 8 Proz.	Bacillus subtilis Traubenz.-Min. 79,2 μγ „ Max. 15 Proz. noch Wachstum	Rote Torula Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.		
10. Wasser aus Eisenstein	30,0	Bacillus ochraceus Traubenz.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 5 Proz.	Bacillus fluorescens immobilis Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Bacillus violaceus Traubenz.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 5 Proz.		
11. Wasser aus dem Bahnhofe in Pilsen	85,2	Bac. ruber berolinensis Traubenz.-Min. 792 μγ „ Max. 15 Proz.	Bacillus violaceus Traubenz.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 5 Proz.	Bac. aquatilis fluoresc. Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 9 Proz.	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.	
12. Wasser aus dem Hotel Post in Furth i. W.	58,3	Bacillus stolonatus Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 10 Proz.	Spirillum subtilissimum Traubenz.-Min. 0,000792 μγ „ Max. 8 Proz.	Bac. fluoresc. immob. Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.	
13. Wasser vom Hotel Rheinischer Hof in Nürnberg	72,4	Microc. cinnabarinus Traubenz.-Min. 7,92 μγ „ Max. 15 Proz.	Bac. fluoresc. immob. Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Rote Torula Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.	
14. Wasser aus Bayreuth	42,4	Micrococcus candicans Traubenz.-Min. 0, 000792 μγ „ Max. 5 Proz.	Rote Torula Traubenz.-Min. 0,792 μγ „ Max. 15 Proz.	Weiße Sarcina Traubenz.-Min. 0,00792 μγ „ Max. 12 Proz.		

periode ein verzögertes Wachstum und von da an schon ein normales eingetreten.

In der $\frac{n}{50}$-Lösung dauerten die ersten 4 Impfperioden 6 Tage, zwei 4, dann zehn 3 und von da ab 2 Tage.

In einer $\frac{n}{25}$-Glukose währten die ersten 3 Perioden 9, dann 2 Perioden 6, 4 Perioden 4 und von da ab 3 Tage.

In $\frac{n}{20}$-Glukose in 3 Wochen schwaches Wachstum.

Bei der Rückimpfung von dieser Lösung auf Millimollösung war erst am 8. Tage deutliches Wachstum wahrzunehmen, dagegen auf eine $\frac{n}{50}$-Lösung nach 5 und $\frac{n}{35}$-Lösung nach 4 Tagen.

Rückgewöhnungsversuche: Von einer $\frac{n}{20}$-Lösung in der 3. Impfperiode (12 d) auf eine Millimollösung abgeimpft: Wachstum nach 6 Tagen, dann durch 10 Perioden in 4, von da ab in 3 Tagen.

Beim Ueberimpfen von $\frac{n}{20}$ auf $\frac{n}{100}$ zunächst Wachstum in 6, dann durch 4 Perioden in 4, von da durch 10 Perioden in 3 und dann in 2 Tagen.

Das Ueberimpfen auf eine $\frac{n}{50}$-Lösung ergab Wachstum in 4 Tagen durch 10 Perioden, von da ab in 2 Tagen.

3. Bacillus ruber berolinensis.

Dieser ziemlich anspruchsvolle Mikrobe (Minimum an Traubenzucker 7,92 $\mu\gamma$) zeigt bei der Ueberimpfung auf Centimol-Glukose keine Veränderung der Wachstumserscheinung.

Beim Ueberimpfen auf $\frac{n}{75}$-Glukose zeigt sich bei der 1. Periode eine Wachstumshemmung (4 d), von da ab Wachstum in 2 Tagen.

Auf $\frac{n}{50}$-Glukose war durch 3 Perioden Wachstum erst in 3 Tagen, von da in 2 Tagen eingetreten.

Eine Wachstumshemmung konnte beim Ueberimpfen auf $\frac{n}{35}$-Glukose (5,66 Proz.) konstatiert werden. Die ersten 3 Impfperioden trat Wachstum am 5. Tage, dann 5 Impfperioden durch 3 Tage, von da in 2 Tagen ein.

Auf einer $\frac{n}{25}$-Glukose konnte durch 10 Perioden Wachstum erst am 6. Tage, dann 3 Perioden in 5 Tagen, dann 5 Perioden in 4, von da ab in 3 Tagen erzielt werden.

Auf $\frac{n}{20}$-Lösung war ein Wachstum erst am 12. Tage in der ersten Impfperiode eingetreten, dann fiel es durch 10 Perioden auf 6 Tage, dann hielt es sich auf 5 Tagen.

Bei der Rückgewöhnung von $\frac{n}{20}$ auf Millimollösung dauerte die erste Impfperiode 12, die zweite 10, die dritte 5 Tage, dann durch 10 Perioden 3 Tage.

Auf Centimol-Glukose: Die 4 ersten Perioden 8 Tage, von da ab 5 Tage.

Auf $\frac{n}{75}$-Glukose: Die erste Periode 6, die zweite 4, von da an 3 Tage.

4. Micrococcus candicans.

Dieser Mikrobe zeichnet sich durch relative Anspruchslosigkeit aus (Minimum an Traubenzucker 0,000792 $\mu\gamma$, Maximum 5 Proz.).

Millimolkulturen zeigten, auf Centimol-Glukose übertragen, keine Veränderung der Entwickelung.

Auf $\frac{n}{75}$-Glukose war durch 3 Perioden zunächst ein Wachstum erst in 4 Tagen eingetreten, von da war dieses normal am 2. Tage aufgetreten.

In einer $\frac{n}{50}$-Glukose war durch 5 Perioden Wachstum in 5, dann durch 4 Perioden in 4, von da in 3 Tagen zu konstatieren.

In einer $\frac{n}{25}$-Glukose 2 Perioden in 10 Tagen, von da ab in 5 Tagen.

In einer $\frac{n}{20}$-Glukose in 3 Wochen kein Wachstum.

Auf Millimollösung in dieser Zeit zurückgeimpft, war in 14 Tagen kein Wachstum zu beobachten, dagegen war am 9. Tage auf einer $\frac{n}{75}$-Lösung Wachstum eingetreten.

Auch hier habe ich den Glukoselösungen isotonische Lösungen hergestellt und gefunden, daß auf einer der $\frac{n}{20}$-Traubenzuckerlösung isotonischen $\frac{n}{28}$- oder 2,08-proz. NaCl-Lösung ebenfalls selbst in 3 Wochen kein Wachstum eintritt, während in einer weniger konzentrierten Lösung $\frac{n}{50}$- oder 1,17-proz. NaCl-Lösung (isotonische einer $\frac{n}{35}$-Glukoselösung) Wachstum eintrat.

5. Bacillus fluorescens fuscus.

Auch dieser Mikrobe hat ein niedriges Traubenzuckerminimum, 0,000792 $\mu\gamma$, doch ist hier das Maximum 15 Proz., also ein relativ hohes.

Er zeigt bei der Ueberführung in eine Centimol-, $\frac{n}{75}$- und $\frac{n}{50}$-Glukose keine Verzögerung in der Entwickelung.

In $\frac{n}{35}$-Lösung übertragen, war ein Wachstum durch 3 Perioden in 4 Tagen, durch 10 Perioden in 3 Tagen eingetreten.

In $\frac{n}{25}$-Lösung: 10 Perioden in 4 Tagen, von da an in 3 Tagen.

In $\frac{n}{20}$-Lösung: 3 Perioden in 8 Tagen, 10 Perioden in 5, von da in 3 Tagen.

In $\frac{n}{15}$- oder 13,2-proz. Glukoselösung war am 11. Tage schwaches Wachstum eingetreten, 3 Impfperioden in 8 Tagen, 5 folgende Perioden in 4 und dann in 3 Tagen.

Ueberimpfung einer Millimolkultur auf $\frac{n}{10}$- oder 19,8-proz. Glukoselösung, selbst in 3 Wochen kein Wachstum.

Bei einer Rückimpfung auf Millimol, $\frac{n}{75}$-, $\frac{n}{50}$-, $\frac{n}{20}$-Lösung kein Wachstum. Die Bakterien konnten daher diese Konzentration nicht mehr vertragen.

Bei der Rückgewöhnung aus einer $\frac{n}{15}$ der 4. Impfperiode (8 d) in eine Millimollösung konnte in der ersten Impfperiode ein Wachstum erst am

9. Tage konstatiert werden, dann war es durch 3 Perioden am 7. Tage, dann durch 10 in 3 Tagen erfolgt.

In der Centimollösung dauerten die 4 ersten Perioden 6, dann 10 Perioden 4 Tage.

In der $\frac{n}{50}$-Lösung waren 2 Perioden 6, dann 2 in 4 und von da in 3 Tagen.

In der $\frac{n}{25}$-Lösung eine Periode in 4, von da in 3 Tagen.

6. Bacillus aquatilis communis.

Dieser Mikrobe erwies sich als besonders schnell anpassungsfähig. Beim Ueberimpfen der Kulturen von einer Millimol-Traubenzuckerlösung auf eine Centimol-, $\frac{n}{75}$- und $\frac{n}{50}$-Zuckerlösung war gar keine Wachstumshemmung eingetreten. Erst auf $\frac{n}{35}$- oder 5,66-proz. Zuckerlösung war durch 2 Impfperioden Wachstum in 4 Tagen, von da ab in 3 Tagen eingetreten.

Auf $\frac{n}{25}$-Lösung durch 5 Perioden Wachstum am 5. Tage, durch 2 Perioden am 4. Tage, von da an in 3 Tagen.

$\frac{N}{20}$-Lösung: Durch 2 Perioden Wachstum am 8. Tage, durch 3 Perioden in 6 Tagen, durch 6 Perioden in 4 Tagen, von da in 3 Tagen.

Auf einer $\frac{n}{15}$-Lösung auch in 3 Wochen kein Wachstum.

Rückgewöhnung: Von Stämmen, die in $\frac{n}{20}$-Lösung kultiviert, wurden in der 4. Impfperiode (6 d) auf Millimol-Centimol und $\frac{n}{50}$-Lösungen übertragen. In der Millimollösung war in einer Periode Wachstum in 6, dann aber in den folgenden 2 Perioden in 4 und von da ab in 3 Tagen eingetreten.

Auf der Centimollösung währten die ersten 3 Perioden 4, dann 3 Tage durch 5 Perioden, dann 2 Tage. Auf $\frac{n}{50}$-Glukoselösung: Die ersten 6 Perioden 3 Tage, dann 2 Tage.

7. Bacillus gasoformans.

Dieser Bacillus hat die Eigenschaft, auf Gelatine und Agar Gasblasen zu bilden, und es konnte das Auftreten solcher besonders deutlich auch in den Anpassungsversuchen beobachtet werden. Bei höherer Konzentration der Zuckerlösung verschwinden die Gasblasen gänzlich, treten aber bei der Rückgewöhnung, also bei plötzlicher Ueberimpfung auf geringe Konzentrationsgrade, deutlich auf.

Bei Ueberimpfung von in einer Millimollösung gezüchteten Mikroben auch Centimol-Glukose war keine Wachstumshemmung eingetreten, die Gasbildung war eine starke.

Auf $\frac{n}{75}$-Glukose war durch 2 Perioden Wachstum am 4. Tage, durch eine Periode in 3 Tagen, von da in 2 Tagen eingetreten. Gasbildung nachweisbar.

Auf $\frac{n}{50}$-Lösung: Durch 4 Perioden Wachstum am 4. Tage, durch 5 Perioden am 3. Tage, dann in 2 Tagen, Gasbildung schwach.

Auf $\frac{n}{25}$- oder 7,92-proz. Glukoselösung war nach der ersten Ueber-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

tragung erst Wachstum am 8. Tage eingetreten; 5 weitere Impfperioden nach 5 Tagen, durch 6 Perioden nach 4 Tagen, 3 Perioden in 3 Tagen. Gasbildung war nicht wahrnehmbar.

Ueberimpfung von einer Millimolkultur auf $\frac{n}{20}$ oder 9,95-proz. Glukoselösung: Auch in 14 Tagen kein Wachstum und keine Gasbildung. Bei Rückimpfung auf Millimollösung trat Wachstum in 6 Tagen ein, wobei auch Gasbildung eintrat.

Rückgewöhnung: Von einer $\frac{1}{25}$-Mol-Kultur der 10. Impfperiode (5 d) auf Millimollösung war Wachstum durch 2 Perioden in 5, durch 4 Perioden in 4, durch 3 Perioden in 3 Tagen zu konstatieren, Gasbildung war reichlich.

Auf Centimollösung durch eine Periode in 6, dann 2 Perioden in 4, von da in 3 Tagen. Gasbildung. In einer $\frac{n}{50}$-Lösung war Trübung schon am 3. Tage, in der 6. Impfperiode sogar in 2 Tagen erschienen. Gasbildung war schwach.

Zum Vergleich wurden die im Laufe der Arbeit isolierten anspruchsvollen Mikroben, und zwar Bacillus coli communis und Bacillus cloacae herangezogen.

8. Bacillus coli communis.

Dieser Mikrobe, der ein solches Traubenzuckerminimum (792 $\mu\gamma$) und ein hohes Maximum (Wachstum noch in 18-proz. Lösung) hat, zeigte anfangs, auf einer Millimollösung gezüchtet, nur ein sehr schwaches Wachstum, es dauerte 8 Tage in den ersten 4 Impfperioden, ehe überhaupt eine Trübung der Nährlösung beobachtet werden konnte. Von der 4. Impfperiode an konnte durch 5 Perioden ein Wachstum schon am 6. Tage von da durch 10 Perioden in 5 Tagen, von hier ab in 3 Tagen Wachstum aufgezeichnet werden.

Auf Centimollösung von einer Millimollösung der 6. Impfperiode (Wachstum in 6 Tagen) geimpft, war keine Aenderung wahrzunehmen. Auch eine $\frac{n}{75}$-Lösung konnte keine Aenderung hervorrufen. Auf der $\frac{n}{50}$-Lösung jedoch war durch 2 Impfperioden Wachstum in 5 Tagen, durch 3 Impfperioden in 4 Tagen, von da in 3 Tagen aufgetreten.

In einer $\frac{n}{25}$- oder 7,92-proz. Traubenzuckerlösung war durch 5 Impfperioden Wachstum in 4 Tagen, von da in 3 Tagen zu konstatieren.

In einer $\frac{n}{15}$- oder 13,2-proz. Glukoselösung war in der ersten Impfperiode Wachstum in 4 Tagen, von da in 3 Tagen eingetreten.

$\frac{N}{10}$- oder 19,8-proz. Glukoselösung: 2 Impfperioden in 10 Tagen, 3 Perioden in 6, 5 Perioden in 4 Tagen, von da an in 3 Tagen.

Rückgewöhnung: Impfung aus einer $\frac{N}{10}$-Lösung 2. Impfperiode (10 d) in eine Millimollösung. In der ersten Impfperiode trat eine schwache Trübung erst am 12. Tage ein, in der 2.—7. Periode nach 8. Tagen, von da an in 5 Tagen.

In der Centimollösung war durch 5 Perioden Wachstum in 9 Tagen, dann durch 6 Perioden in 4 Tagen eingetreten.

In der $\frac{n}{50}$-Lösung war Wachstum in den ersten 3 Perioden in 6 Tagen, durch 6 Perioden in 4 Tagen eingetreten.

In einer $\frac{n}{25}$-Traubenzuckerlösung war durch 6 Perioden Wachstum in 5 Tagen, von da an in 3 Tagen zu verzeichnen.

9. Bacillus cloacae.

Dieser Mikrobe, der von allen bis jetzt isolierten Formen der relativ anspruchsvollste ist (Minimum 7920 $\mu\gamma$, Maximum 18 Proz. noch Wachstum) zeigte ein sehr interessantes Verhalten.

In $\frac{n}{10}$-Traubenzuckerlösung = 19,8-proz. Lösung akklimatisierte Stämme auf eine Millimollösung übertragen, nach 3 Wochen kein Wachstum.

Auf einer Centimollösung trat Wachstum schon am 8. Tage ein und es konnte durch Abimpfung von dieser Lösung auf eine Millimollösung schon am 8. Tage ebenfalls deutliche Trübung der Nährlösung beobachtet werden.

Die Anpassung an höhere Konzentrationen gelang sehr leicht, und es konnte die auf Umwegen hergestellte Millimollösung auf $\frac{n}{100}$-, $\frac{n}{75}$-, $\frac{n}{50}$-, bis $\frac{n}{10}$-Lösung, keine Verzögerung des Wachstums hervorrufen, ja es war ein deutliches besseres Gedeihen bis zur $\frac{n}{25}$-Lösung zu verzeichnen.

Von einer $\frac{n}{1000}$-Lösung (8 d) auf eine $\frac{n}{25}$-Lösung überimpft, war folgender Verlauf zu verzeichnen: 1. Periode: 8 Tage, 3 Perioden 5, 1 Periode 4 Tage.

Die Rückgewöhnung an niedere Konzentrationen ergab hier eine bedeutende Wachstumshemmung. Die von einer $\frac{n}{10}$-Traubenzuckerlösung (7 d) auf eine Millimollösung übertragenen Stämme ergaben nach 3 Wochen keine Trübung der Lösung.

Auf $\frac{n}{100}$-Lösung: 3 Impfperioden 8 Tage, 2 Perioden 7 Tage, 10 Perioden 5 Tage, dann 3 Tage.

Auf $\frac{n}{20}$-Lösung: 10 Perioden 7, 2 Perioden 5, dann 3 Tage.

Im Gegensatz zu den anspruchslosen Formen, geht bei den anspruchsvollen die Akkommodation nach abwärts schwieriger, als von niedrigen Konzentrationsgraden auf höhere.

Nachdruck verboten.

Besitzen wir eine brauchbare Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung?

Von Privatdozent Dr. **Hugo Fischer.**

Um die Frage zu prüfen, bedarf es einer wesentlich genaueren Fragestellung, als in der Ueberschrift möglich war. Die Brauchbarkeit kann sich auf die Anforderungen der Wissenschaft oder auf die Bedürfnisse der Praxis erstrecken. Das ist freilich im Grunde genommen dasselbe, aber diese Erkenntnis ist leider durchaus noch nicht in genügendem Maße anerkannt, weder auf Seiten der Wissenschaft, noch bei den Männern der Praxis. Will sich irgend ein praktischer Erwerbszweig überhaupt auf Wissenschaft stützen — was noch in jedem Fall sich aufs glänzendste bewährt hat — so ist dazu selbstredend eine Handvoll unzusammenhängender empirischer Tatsachen, obzwar vielleicht für manche oder selbst für viele Zwecke ausreichend, doch schließlich wesentlich weniger geeignet als ein wohlfundamentiertes und festgefügtes Lehrgebäude aus klar erkannten Ursachen und Wirkungen. Die wissenschaftliche Forschung will einen Komplex von Erscheinungen unserem Verständnis erschließen, die Praxis will jenen Komplex nach ihren Bedürfnissen, zu ihrem Nutzen beherrschen, was natürlich nicht oder nur unvollkommen möglich ist, solange ein eingehenderes Verständnis fehlt. Die Praxis wird nicht jedes Ergebnis der Forschung gleich hoch bewerten können, ob es aber wohlgetan ist, in dem sonst festgefügten Bau hier und da einen Stein auszulassen, das möchte ich nicht bejahen, die Benutzbarkeit des Gebäudes dürfte doch darunter leiden. Darum ist das (objektive) Interesse der Praxis an einer gründlichen, nicht bloß die Oberfläche der Erscheinungen streifenden Erforschung aller, auch der biologischen, Bodenverhältnisse ganz beträchtlich größer, als das (subjektive) Interesse der meisten Praktiker an diesen „theoretischen“ Fragen!

Unsere Fragestellung muß also lauten: Gibt es eine Methode, die geeignet ist, über die mikrobiotischen Zustände und Vorgänge im Boden (insbesondere im Ackerboden) ausreichende Klarheit zu verbreiten, uns den ursächlichen Zusammenhang derart verstehen und durchschauen zu lassen, daß wir daraus weitere Schlüsse ziehen können, welche zu praktischen Ratschlägen für die Behandlung oder die Bewertung eines Bodens im Dienste der Pflanzenproduktion verwertbar sind?

In welcher Richtung das anzustrebende Verständnis der Bodenbiologie auf die Praxis der Bodenbearbeitung einzuwirken berufen ist, das läßt sich natürlich im voraus nicht sagen. Ja, es könnte sein, daß eine wirkliche willkürliche Beherrschung der betreffenden Verhältnisse sich als nicht oder nur in geringem Grade durchführbar herausstellt; aber selbst dann wäre die gewonnene Erkenntnis nicht wertlos. Steht es doch längst außerhalb aller Diskussion, daß die Landwirtschaft ein sehr lebhaftes Interesse an sorgfältigen wissenschaftlichen Wetterbeobachtungen hat, obwohl niemand im Ernste hofft, wir würden noch einmal das Wettermachen lernen!

Aber die Gefahr, daß sich der reale Nutzen der bodenbakteriologischen Forschungen nur in solch weiterem Sinne äußern könnte, dürfen wir schon heute als nicht vorhanden ansehen. Ich will hier nur auf einen Punkt hinweisen, der mich aller weiteren Ausführungen überhebt, das ist die Schwefelkohlenstofffrage. Auf die ausführliche Deutung der recht komplizierten und noch nicht in allen Teilen klargestellten Vorgänge, die sich in einem mit Schwefelkohlenstoff beschickten Boden abwickeln, will ich hier nicht eingehen. Zunächst ist es ohne Zweifel die Abtötung zahlreicher Bodenorganismen, die eine beträchtliche Menge Stickstoff mobil und dem Pflanzenwuchs zugänglich macht, welche es bewirkt, daß die Schwefelkohlenstoffbehandlung sich im Erfolg wie eine kräftige Stickstoffdüngung äußert. Die beobachtete Aufhebung der „Bodenmüdigkeit“ erklärt sich daraus allein aber nicht; vielleicht gibt es unter den Mikroorganismen des Bodens besonders schädliche „Unkräuter“, die durch den Schwefelkohlenstoff vergiftet werden. Vielleicht sind die Ursachen dafür noch anderswo zu suchen, z. B. in den von Hiltner nicht ohne Grund vermuteten „Hemmungsstoffen“, bezw. in deren Beseitigung in weiterer Folge der Schwefelkohlenstoffbehandlung. So viel steht aber unverrückbar fest, daß die Einwirkung des Schwefelkohlenstoffes auf die Mikrobenflora und -fauna des Bodens eine sehr beträchtliche Ertragssteigerung zur Folge hat. Dieser Fall zeigt uns deutlich, daß das tiefere Eindringen in jene biologischen Fragen nicht bloß „blasse Theorie“, sondern von bedeutendem praktischen Wert ist.

Welche Wege stehen uns nun für dieses Eindringen zur Verfügung?

Das älteste Verfahren wurde zuerst von verschiedenen medizinischen Bakteriologen, Fraenkel u. a., geübt. Es wurde Boden, eventuell nach „Verdünnung“ mit einer größeren Menge sterilisierten Bodens, mit Gelatine geschüttelt und (abgesehen von dem Suchen nach pathogenen Organismen, die uns hier nicht interessieren) die Zahl der aufgehenden Bakterienkolonieen festgestellt. Das Verfahren wird jetzt wohl meist mittels Aufschwemmen und Verdünnen mit sterilisiertem Wasser ausgeführt. Daß diese Zählmethode erstens an sich unvollkommene und ungenaue Resultate liefert, zweitens aber kein zurzeit erkennbarer Zusammenhang zwischen Keimzahl und Bodenqualität besteht, ist wohl allgemein anerkannt. Daß relative Steigerung oder Abnahme der Keimzahl auf Vorgänge bezw. Veränderungen, die von Wichtigkeit sein können, im Boden und seinen biologischen Verhältnissen hinweist, ist unbestreitbar; nur kennen wir die Beziehungen noch nicht, die zwischen dem jeweiligen Bodenzustand und der Bakterienzahl bestehen. Aus dieser gegenwärtigen Unkenntnis kann man einerseits Anlaß nehmen, die ganze Frage als „unfruchtbar“ beiseite zu lassen, man kann aber auch die Unkenntnis zu beseitigen streben durch tieferes Nachforschen nach dem doch irgendwie bestehenden Zusammenhang, und man kann ferner gerade von der Plattenmethode aus zu einer wissenschaftlicheren (aber nicht blaß-theoretischen!) Untersuchungsmethode gelangen, insofern man die aufgehenden Keime nach Namen und Art feststellt, und so allmählich zu einer wirklichen Bakteriologie des Bodens gelangt; selbstredend wäre diese Feststellung allein noch lange nicht das Endziel der Forschung. Doch davon später.

Die Mängel des Plattenverfahrens zu beseitigen, hat Hiltner seine Verdünnungsmethode ausgedacht, die sich jedoch, abgesehen von der großen Umständlichkeit, auch sonst kaum Freunde erworben hat. Für die gewöhnlichen heterotrophen Bakterien, die die überwiegende Mehrzahl ausmachen dürften, ist die hier angestrebte „Einzellkultur“ überflüssig, da diese auch auf Gelatine- oder Agarplatten angehen; autotrophe Mikroben aber, wie die Nitrobakterien, und Stickstoffsammler wie Azotobakter (die nur mittels Anhäufungskulturen zu gewinnen sind), scheinen bei geringer Aussaat schwierig anzugehen, so daß man über ihre absolute und selbst ihre relative Zahl auch durch die Verdünnungsmethode keinen rechten Aufschluß erhält. Wir müssen dabei bedenken, daß Ackerboden und Nährlösung zwei sehr verschiedene Substrate sind! Und schließlich gibt uns auch diese Methode zunächst nichts weiter als Keimzahlen, die nicht in erkennbarem Zusammenhang mit dem Zustand und der Beschaffenheit des Bodens stehen.

Wieder von einer anderen Seite suchte Remy (14) den schwierigen Fragen näherzukommen. Er ging von dem an sich richtigen Gedanken aus, daß es für die Vorgänge, insbesondere für die Stickstoffumsetzungen im Boden mehr als auf die Anzahl auf die jeweilige Wirkungsfähigkeit der vorhandenen Mikroben ankomme; daß Bakterien gerade in dieser Richtung sehr variabel sind, ist ja eine hundertfach bekannte Tatsache. Jenen Gedanken habe ich selbst seiner Zeit, in Anlehnung an ein Wort Schillers im Demetrius, dahin ausgedrückt, man müsse auch die Bakterien des Bodens „wägen und nicht zählen“ — das Wägen natürlich auch hier im übertragenen Sinne gemeint.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Aber so einfach, wie auf den ersten Blick, liegt die Sache doch bei näherem Zusehen nicht, vielmehr stehen wir hier vor höchst verwickelten und dunklen Verhältnissen. Wenn die Bakterienzahl in einem Substrat zurückgeht, so muß das wohl irgendwie auf eine Schädigung zurückzuführen sein, von der die einen umgebracht, die überlebenden aber doch vielleicht auch einigermaßen geschwächt werden, wobei aber vermutlich gerade die kräftigsten überleben. Findet aber Bakterienvermehrung statt, so werden nach allem, was wir darüber urteilen können, die lebenskräftigsten sich auch am stärksten vermehren, während die schwachen unterliegen. Warum also ein Gegensatz zwischen Wirkungskraft und Vermehrungsfähigkeit bestehen sollte, ist nach unserer bisherigen Kenntnis nicht einzusehen; die jeweilige Bakterienzahl ist aber eine Funktion ihrer Vermehrungsfähigkeit. Wenn es vorkäme, daß sich Bakterien im Boden reichlich vermehren, jedoch unter Bedingungen, die ihre Wirkungskraft schwächen, so ist doch mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß durch jene Vorgänge Stoffe des Bodens aufgeschlossen werden, dieser also fruchtbarer wird. Nach Remy müßte aber, wenn sein Verfahren von Wert sein soll, der fruchtbare Boden die kräftigeren Bakterien enthalten (vergl. unten).

Ferner ist, besonders durch die bekannten Arbeiten Alfred Fischers (4) festgestellt, daß Bakterien gegen rasche Aenderungen des osmotischen Druckes, also gegen Eintragen in eine Flüssigkeit von höherem oder geringerem osmotischen Koëffizienten, als vorher, oft auffallend empfindlich sind, wovon sich allerdings alle Sporen und vielleicht auch sonstige, nicht sporenartige Dauerzustände ausschließen. Diese Eigenschaft bedingt es aber, daß beim Eintragen eines Bakteriengemisches in eine Nährlösung alsbald eine Art künstlicher und doch wieder natürlicher Auslese stattfindet. Im Boden standen die Keime unter dem ausgleichenden Einfluß der Absorption seitens der kolloidalen Ton-, Humus- usw. Partikelchen; nun werden sie plötzlich in eine überwiegende Wassermenge gebracht, in welcher die Druckänderung sich in der Richtung äußern muß, daß die eben in Vermehrung begriffenen, also zurzeit wohl besonders aktionsfähigen Zellen mehr oder weniger geschädigt, die inaktiven Sporen oder sonstigen Dauerzustände aber zum Auskeimen gebracht werden. Das sind ohne Zweifel hochinteressante, im einzelnen natürlich noch sehr der Aufhellung bedürftige Vorgänge, die sich da abspielen, aber irgend ein deutliches Bild von dem gegenwärtigen Bakterienleben im Boden erhalten wir auf diesem Wege nicht.

Die Auslese geht aber noch weiter. Denn auch unter den sich nun vermehrenden Keimen werden die einen mehr als die anderen befähigt sein, gerade in einer größeren Flüssigkeitsmenge zu wachsen; das sind ja doch hier ganz andere Lebensbedingungen als im Ackerboden. Wir wissen durch die schönen langjährigen Arbeiten Beijerincks (vergl. 16) über Anhäufungskulturen — die Grundlagen dazu finden sich schon bei Ferdinand Cohn — daß unter solchen Bedingungen eine Species die andere zu überflügeln pflegt; man vergleiche dazu auch die bekannten Beobachtungen von Wortmann (18) über den Wettkampf in den Gärbottichen und den endlichen Sieg der Alkoholhefen über ihre Mitbewerber. Wir schaffen also ohne Zweifel in der Nährflüssigkeit so ganz veränderte Verhältnisse, daß wir auch darum das natürliche Bild von der Mikrobenflora des Bodens gar nicht zu Gesicht bekommen. Wie sehr kleine Abweichungen in den Ernährungsbedingungen eine solche Anhäufungskultur (das sind die Remyschen Versuche in ihrer

Anlage, wenn auch nicht dem Zwecke nach) in ihrem Gange beeinflussen können, das zeigt die von Löhnis und Parr (10, p. 522) hervorgehobene Tatsache, daß je nach Gabe von Pepton, Knochenmehl oder dgl., ja selbst in Peptonlösungen verschiedener Herkunft ganz verschiedene Bakterienarten oder Bakteriengemische zur Entwickelung gelangen. Eine Reaktion, die so von Nebenumständen abhängig ist, kann schon darum nicht als zuverlässig anerkannt werden.

Daß die Stickstoffumsetzung nach Beimpfung von Pepton, Knochenmehl u. dergl. mit Bakterien und gar erst mit Bakteriengemischen ein komplizierter Vorgang ist, über den wir durch ein- oder zweimalige Entnahme von Stichproben, die nur auf Ammoniakstickstoff analysiert werden, keinen genügend klaren Aufschluß erhalten, sei nur nebenbei erwähnt, obwohl es keineswegs unwichtig ist. Bei solchen Umsetzungen wirkt eben eine ganze Reihe von Faktoren mit- und durcheinander, die wir noch gar nicht alle kennen, und deren höchst mühsame weitere Verfolgung uns gewiß manche recht interessante Aufschlüsse geben würde, aber kein Bild von dem jeweiligen bakteriologischen Zustand des Bodens in dem Augenblick, als er zu den Versuchen entnommen wurde.

Dazu kommt noch ein weiteres Moment: Wenn wir in zwei sonst gleich behandelte Portionen Nährlösung von 50 oder 100 ccm je 10 g zwei verschiedener Böden eintragen, so bringen wir mit den beiderlei Böden zweierlei Stoffmischungen in die Kulturen, die nicht gleich sind, so daß die nun sich entwickelnden Bakterienmassen von vornherein unter verschiedenen Lebensbedingungen stehen, welch letztere wir einigermaßen genau nur beurteilen können, wenn die beiderlei Böden aufs sorgfältigste nach allen Richtungen chemisch untersucht sind. Ist das aber geschehen, dann ist es doch höchst fraglich, ob wir durch die Remysche Methode noch irgend etwas Neues erfahren, was uns für die Beurteilung der beiden Böden von Wert sein kann. Man wird dabei vor allen Dingen an die Reaktion der Böden denken müssen, die einerseits durch den Prozentgehalt an kohlensaurem Kalk, Magnesia usw., andererseits durch Humussäuren u. dergl. beeinflußt ist. Die Wirkung von Bodenzugabe zu Roh- und Reinkulturen haben in neuerer Zeit namentlich Christensen (2), in zwei sonst nicht sehr inhaltsreichen Arbeiten, und Bredemann (1) verfolgt; in letzterem Fall ist es vermutlich der Stickstoffgehalt des Bodens, im ersteren ist es ohne Zweifel der Kalk, der seine Wirkung übt. Daß aber gerade die verbreitetsten Fäulnisbakterien gegen saure Reaktion des Substrates sehr empfindlich sind, ist längst bekannt. Nun wird es auch klar, warum man nach der Impfung mit 10 g Boden größere Ausschläge erhält, als mit 1 g; an den Bakterien kann es nicht liegen, da deren Zahl sich unter günstigen Bedingungen mit Leichtigkeit in wenigen Stunden auf das 10-fache vermehrt. Bezüglich der Remyschen Originalarbeiten (14) herrscht ja wohl überhaupt nur eine Meinung, daß der absolute Kalkmangel in den sauer reagierenden Böden die Ursache sowohl der hochgradigen Unfruchtbarkeit, als auch des „bakteriell abnormen Verhaltens“ der beiden Böden war. Um Kalkmangel und saure Reaktion nachzuweisen, ist aber, das wird jeder zugeben, das bakteriologische Verfahren reichlich umständlich.

Auch die Untersuchungen, die ich seiner Zeit gemeinsam mit Ph. Schneider unter Wohltmanns Leitung im Anschluß an des letzteren „Spezifischen Düngungsversuch“ ausgeführt (17), kommen nach alledem, wie ich sie jetzt zu beurteilen in der Lage bin, ganz wesentlich, wenn nicht ausschließlich, auf den Kalkgehalt bezw. auf die Reaktion des

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bodens hinaus. Daß aber zwischen Kalkgehalt und Fruchtbarkeit eines Bodens kein direktes gerades Verhältnis besteht, daß insbesondere der Kalk die Verarmung der Böden begünstigt (vergl. 12), ist eine bekannte Tatsache, die ich hier nicht ausführlicher zu erörtern brauche.

Löhnis (9) hat das Remysche Verfahren weiter dahin ausgebaut, daß er unter anderem an Stelle des zu den Nährlösungen verwendeten Wassers Bodenabkochung benützt, und zwar jeweils von dem zu prüfenden Boden, so daß jede Kultur mit demselben Boden beimpft wird, mit dessen Extrakt sie angesetzt ist. Durch dieses Extrakt aber wird dasjenige Moment noch verstärkt, das kurz zuvor betont wurde: Es kommt etwas von den spezifischen Eigenschaften des Bodens in jede Kultur hinein, was den Gang der Bakterienentwickelung derart beeinflußt, daß das spezifische Bakterienleben, wie es zuvor im Boden war, erst recht nicht mehr rein zum Ausdruck kommen kann. Das steht, nur nicht in dieser Form, gedruckt bei Löhnis (9, p. 460 u. 461): Dort berichtet er, wie er von geschälter und nicht geschälter Parzelle in Lösungen ohne Bodenextrakt fast absolut gleiche Analysenzahlen bekommen hat, beträchtliche Abweichungen aber, wenn er mit Bodenextrakt arbeitete. Daraus geht doch klar hervor, daß zwischen den beiderseitigen Bakterienfloren an sich kein auf diesem Wege nachweisbarer Unterschied bestand, daß ein solcher vielmehr erst bewirkt wurde durch die verschiedenartigen Vegetationsbedingungen in den zwei verschiedenen Bodenextrakten.

Gutzeit (6) allerdings ist zu stark abweichenden Ergebnissen gelangt: Von mit Hederich verunkrautetem und hederichfreiem Boden erhielt er unter Verwendung von Bodenextrakt zur Nährlösung stärkere Nitrifikation, als mit einfach wässeriger Lösung. Aber der prozentuale Unterschied im Nitrifikationsvermögen der beiden Parzellen war im Wasser größer als im Bodenextrakt! Welcher Inhaltsbestandteil der Bodenextrakte fördernd auf die Oxydation eingewirkt hat, bleibt noch zu prüfen; vermutlich war es der Gehalt an Humussubstanzen. Uebrigens hat, selbstredend zwischen den beiden Parzellen, mit und ohne Hederich, ein sehr wesentlicher Unterschied hinsichtlich der Ertragsfähigkeit bestanden; in der relativen Fäulniskraft kommt dieser Unterschied aber nicht zum Ausdruck, auch nicht in der Stickstoffassimilation, und selbst das Uebergewicht des von Hederich freien Bodens hinsichtlich der Nitrifikation ist nicht eben verblüffend groß — bedenkliche Zeichen für die Brauchbarkeit der ganzen Methode!

Von zwei ceteris paribus im Gehalt an Kalk bezw. an Humusstoffen verschiedenen Böden wird der kalkreichere ein mehr alkalisches, der humusreichere ein mehr saures Extrakt geben. Größere Alkalität aber begünstigt zunächst einmal alle Fäulniserscheinungen einschließlich der Denitrifikation, ebenso aber auch die Nitrobakterien und Stickstoffsammler, von welchen wir später noch sprechen. Das dürfte auch aus den Löhnisschen Versuchen mit geschälter und nicht geschälter Parzelle hervorgehen, von denen die letztere, infolge von geringerer Durchlüftung, reicher an halbzersetzter Pflanzensubstanz, also an Humussäuren gewesen sein dürfte — diese Deutung hat wenigstens alle Wahrscheinlichkeit für sich. Sie wird weiter bestätigt durch eine von Löhnis selbst (10) [p. 525 unten] zitierte Beobachtung von Lipman und Voorhees (8), welche fanden, daß in verschieden beimpften Kulturen die Unterschiede in der bakteriellen Wirkung verschieden gedüngter Böden fast völlig verloren gingen, wenn die zu

den Fäulnisversuchen benutzte Peptonlösung zuvor schwach alkalisch gemacht worden war!!! Also: ursprünglich verschiedene Bakteriengemische zeigen gleiche Entwickelung und Wirkung, wenn sie unter gleichen Bedingungen in mit Wasser bereiteter, eventuell schwach alkalischer Nährlösung wachsen; die Unterschiede bringt man erst dadurch hinein, daß man sie von vornherein unter ungleiche Bedingungen in die mit verschiedenen Bodenauszügen versetzten Substrate einträgt[1]. Darum ist es höchstwahrscheinlich, daß Löhnis, wenn er seine Kulturen über Kreuz angesetzt, d. h. Knochenmehl + Bodenauszug oder geschälter Parzelle mit Boden von ungeschälter Parzelle, und umgekehrt, beimpft hätte, er den Ausschlag für die Bodenextrakte, nicht für die Impfungen erhalten haben würde[2].

Ueberaus wichtig ist für die Beurteilung der Frage die Mitteilung von Löhnis (11), daß die „Aktivität des Bodens" beim Aufbewahren in bedecktem Gefäß keine Aenderung erfährt. Da schon lange bekannt ist, daß im Bakterienbestand eines Bodens bei Aufbewahrung im geschlossenen Raum schon über Nacht recht wesentliche Veränderungen eintreten können, so sehen wir hier wiederum, daß wir in jener Methode kein Mittel besitzen, in das Bakterienleben des Bodens erfolgreich hineinzuleuchten.

Die Herstellung des Bodenextraktes scheint die alkalische bezw. saure Reaktion des Bodens noch besonders zur Geltung zu bringen. Wir wissen durch eine Reihe von Arbeiten, die hier nicht einzeln aufgeführt werden sollen, daß im Dampftopf sterilisierter Boden Stoffe enthält, die auf Ernährung und Wachstum grüner Pflanzen von eigenartigem, teils förderndem, teils nachteiligem Einfluß sind. Mit C. Schulze (15) müssen wir annehmen, daß die letzteren, die schädlichen Substanzen, Säurecharakter haben, und daß sie aus der halbzersetzten Pflanzensubstanz gebildet werden. Nun wird es also einerseits von dem Zersetzungszustand der Pflanzenreste, der einerseits eine Funktion des relativen Luftzutrittes ist, andererseits von dem Gehalt des Bodens an Calcium- und Magnesiumkarbonat abhängen, wie das Bodenextrakt ausfällt. Ersterer Faktor erzeugt mehr oder weniger Säuren, die durch letzteren Faktor mehr oder weniger gebunden werden. Also ist der Ausfall der Fäulnisversuche, abgesehen von sonst noch hereinspielenden Ursachen, eine Funktion von Kalk- und Humusgehalt, d. i. $= x \times \frac{1}{y}$, solange wir diese beiden Faktoren nicht bestimmt haben. In einem ganz humusarmen Boden wird aber das Bakterienleben recht schwach entwickelt sein; wenn letzteres in der Remy-Löhnisschen Methode sich getreu widerspiegelt, hätten wir eine dritte Unbekannte in der Gleichung!

Aber, wird man mir einwenden, das sind alles lediglich theoretische Bedenken; was schadet alles das, wenn wir auf jene Weise tatsächlich dazu gelangen können, die Qualität eines Bodens vergleichend zu beurteilen? Was will es besagen, daß wir unter Verwendung der Bodenextrakte nach Löhnis keine reine Vergleichung der beiderlei Bakterienfloren erhalten, wenn dabei um so sicherer die Beschaffenheit des Bodens zum Ausdruck kommt?

---

[1] Auf den von Rahn betonten Unterschied im Nährsalzgehalt der Bodenextrakte dürfte es weniger ankommen, als auf deren Reaktion. Möglich auch, daß die schon erwähnten, nach Hiltner zu vermutenden Hemmungs- oder Ermüdungsstoffe hier mitspielen, indem sie (falls sie kochfest sind) im Bodenextrakt enthalten sind, oder mit der Bodenimpfung in die Kulturen übertragen werden.

[2] Anm. bei Gelegenheit der Korrektur: Ein entsprechender Versuch ist, als vorliegender Aufsatz längst zum Druck gegeben war, angestellt worden und ganz im obigen Sinne, wie erwartet, ausgefallen (vgl. die vorläufig. Mittlg. in Bd. XXII. Heft 18—23. p. 654). Nach neueren Untersuchungen scheint mir der Humusgehalt der Bodenauszüge das ausschlaggebendste Moment zu sein.

Ja, wenn das der Fall wäre! Denken wir uns vor die Aufgabe gestellt, aus zehn verschiedenen Böden, die teils normal fruchtbar, teils von einer, von Fall zu Fall abgestuften, geringeren Ertragsfähigkeit sein sollen, die guten, die schlechteren und schlechtesten nach jener Methode herauszufinden. Das mag teilweise gelingen, in der Mehrzahl der Fälle, und mit Sicherheit, wird es nicht möglich sein (vergl. p. 149, Z. 32—39). Aber damit finge unsere Aufgabe erst an, denn ob ein Boden mehr oder weniger fruchtbar ist, das ist meist schon vorher bekannt, ehe er zur Untersuchung kommt.

Ist jenes Verfahren also weiter geeignet, uns Aufschluß über dasjenige zu geben, was einem Boden fehlt, und über den Grad, in welchem es fehlt? Das scheint mir ausgeschlossen zu sein und auch durch weitere Vervollkommnung der Methode nicht erreichbar. Wir können vielleicht, vielleicht auch nicht, mit Sicherheit feststellen, daß ein Boden „abnorm“ ist, woran das aber liegt, erfahren wir auf diesem Wege nicht! Sollte dergleichen aber gelingen, so wäre immer wieder zu betonen, daß der jeweilige Kalkgehalt, Humusgehalt etc. eines Bodens auf einfacherem und ohne Zweifel sicherem Wege bestimmt werden können. Ein künstlich zusammengesetzter Boden aus reinem Quarzsand mit etwas reinem Ton und allen nötigen anorganischen Stickstoff-, Phosphor-, Kali- usw. -Verbindungen, in reichlich-normalem Prozentsatz versehen, wird nicht wohl als unfruchtbar bezeichnet werden können; sein Bakterienleben dürfte aber, angesichts völligen Mangels an organischer Substanz, sehr minimal sein. Jedenfalls sind die Ursachen der Fruchtbarkeit eines Bodens und die Ursachen der Remyschen bakteriellen Aktivität nicht durchweg die gleichen, also halte ich das Verfahren weder für wissenschaftlich befriedigend, noch für praktisch brauchbar.

Das scheint ja allerdings der Fall zu sein, daß der Fäulnisversuch, namentlich unter Verwendung der Bodenextrakte, als ein leidlich gutes (ob aber wirklich zuverlässiges?!) Anzeichen für die Reaktion des Bodens (vergl. das oben Gesagte) angesehen werden könnte. Das ganze Verfahren wäre somit eigentlich gar kein Zweig der bodenbakteriologischen Forschung, die Bakterien dienten lediglich als eine Art von Indikator. Das könnte vielleicht durch Anwendung von Reinkulturen an Stelle der Gemische, die bei der Impfung mit Boden in die Kolben gebracht werden, noch deutlicher zum Ausdruck kommen, aber auch hier gibt es wohl einfachere Methoden, als das bakterielle (kaum noch bakteriologisch zu nennende) Verfahren.

Das letztere wird nun aber weiterhin noch unsicherer durch den von Rahn (13) gelieferten Nachweis, daß infolge von Austrocknung des Bodens bei Rückgang der Bakterienzahl die bakterielle Aktivität zunimmt. Das wird natürlich nicht sprungweise, sondern allmählich von Stufe zu Stufe geschehen, wie der Wassergehalt allmählich schwindet. Selbstverständlich braucht man einen Boden nicht vor der Untersuchungzu trocknen, wie Löhnis (11) p. 792 ganz richtig bemerkt. Aber der Feuchtigkeitsgrad, in welchem ein Boden vom Feld entnommen wird, ist nicht immer der gleiche, und wenn die Aktivität eine Funktion auch jenes Feuchtigkeitsgrades ist, so müßten wir erst das Gesetzmäßige in diesem Abhängigkeitsverhältnis feststellen, von dem wir wieder sagen müssen, daß es wohl auch kein gleichbleibender, sondern von Fall zu Fall, nach Art, Güte usw. des Bodens, wechselnder Faktor sein wird.

Im Vorhergehenden wurde meist nur auf den Fäulnisversuch Bezug genommen; alle Ammonisationsvorgänge und der der Denitrifikation haben das Gemeinsame, daß es zahlreiche Bakterienarten gibt, die dafür in Frage kommen; diese sind wohl überall in Menge vorhanden. Anders steht es um die besonderen Lebensbedingungen angepaßten Nitrobakterien und Stickstoffsammler. Da der bisher bekannten Arten aus diesen Gruppen nur wenige sind, so ist ihr Vorkommen oder Zurücktreten in einem Boden sehr viel ausschlaggebender für die Beschaffenheit desselben, als das Verhalten der artenreichen Ammonisations- und Denitrifikationsbakterien, von denen eine einzige, zufällig in den Versuchsboden geratene Spore genügen würde, um unter sonst günstigen Bedingungen mittels ihrer Nachkommenschaft in wenigen Tagen eine außerordentlich lebhafte Zersetzung hervorzurufen. Die Nitrobakterien sind in erster Linie abhängig vom Kalkgehalt des Bodens, das gleiche gilt vom Clostridium Pasteurianum Winogr. und vom Azotobacter chroococcum Beij., sie alle wären also im wesentlichen auch als Indikator auf Kalk anzusehen. Mit welcher Exaktheit das unter sonst verschiedenartigen Verhältnissen zutrifft, und inwieweit das Vorkommen von anderen Begleitumständen beeinflußt wird, ist vielfach noch zu untersuchen; die Stickstoffbakterien verlangen selbstredend eine ausreichende Ernährung mit Kohlenhydraten; sofern sie letztere nicht durch Symbiose mit bodenbewohnenden Algen (5) oder durch die Wurzeln höherer Gewächse (7) geliefert erhalten, müssen sie dieselben im Boden vorfinden, und müssen fehlen, wo es an organischer Nahrung gebricht. Für beide physiologische Gruppen, die Nitrobakterien und die Stickstoffsammler, wäre jedenfalls noch festzustellen, in welchem Grade ihr spezifisches Nährstoffbedürfnis mit dem unserer Kulturpflanzen übereinstimmt. Für den Nachweis von Stickstoffbakterien, insbesondere für Azotobacter, den wirksamsten unter ihnen, dürfte nach meinen Erfahrungen die Feststellung mittels Anhäufungskultur nach Beijerinck genügen, ohne quantitative Analyse, die nur irreführen kann, da nach übereinstimmenden, bisher nicht bestrittenen Angaben mehrerer Autoren sein quantitatives Bindungsvermögen für Stickstoff in hohem Maße veränderlich ist und in weiten Grenzen schwankt. Diese Unsicherheit könnte durch die naturwidrige Uebertragung der Vegetation aus dem Boden in die Flüssigkeit veranlaßt sein; vielleicht (?) würden Bodenversuche bessere, gleichmäßigere Ergebnisse liefern. Während aber sowohl Azotobacter wie stickstoffsammelnde Buttersäure- etc. Bakterien auf bezw. in Nährlösungen mit Mannit oder Zucker noch recht gut gedeihen (im Boden allerdings aller Wahrscheinlichkeit nach noch besser!), dürften die Nitrobakterien in Wasserkultur direkt leiden; nicht nur, daß die Nitrifikation in einem geeigneten Boden weit rascher und energischer vor sich geht als in wässeriger Lösung, sind sie im Boden auch weit weniger empfindlich gegen Schädigungen; wie Coleman (3) gezeigt hat, ertragen sie in ihrem natürlichen Substrat relativ große Mengen von Traubenzucker, der in Wasserkultur fast als Gift zu bezeichnen ist, ertragen auch dortselbst Ammoniumsulfat in viel höheren Gaben als bei Kultur in Lösung. Während wir also die Nitrobakterien bei der Remyschen Methode in ganz besonders feindliche Bedingungen bringen, ist andererseits für die Stickstoffsammler jedenfalls die quantitative Stickstoffbestimmung von vornherein, der betonten Veränderlichkeit wegen, mit einer unvermeidlichen Fehlerquelle behaftet, beide Arten von Untersuchung also für eine Vergleichung von Böden wenig geeignet, abgesehen vielleicht von der (einfacher auf rein chemischem Wege zu

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

lösenden) Kalkfrage. Von beiden Gruppen kennen wir die natürlichen Lebensbedingungen und -ansprüche noch viel zu wenig, um aus ihrem mehr oder weniger reichlichen Vorkommen im Boden auf dessen Qualitäten auch nur einigermaßen exakte Schlüsse ziehen zu können. Daß immer (auch hinsichtlich Ammonisation und Denitrifikation) der landwirtschaftlich bessere Boden quantitativ die höchsten Analysenzahlen für die Aktivität seiner Bakterien ergeben müsse, trifft jedenfalls nicht zu, und dadurch verliert die Methode ganz wesentlich an praktischem Wert, zumal auch nicht abzusehen ist, in welcher Weise sie noch vervollkommnet werden könnte. Denn die mittels bakterieller Methoden gewonnenen Analysenzahlen liegen stets nur in einer Reihe, die für die Ertragsfähigkeit wichtigen Eigenschaften des Bodens gehen in allen Richtungen kreuz und quer durcheinander. Die Analysen geben uns Tatsachen, mit denen wir gar nichts weiter anfangen können; oder sollen wir einem Boden, der schwächer als ein anderer „nitrifiziert“, dadurch aufhelfen, daß wir ihm kräftigere Nitrobakterien zuführen? Das glaubt doch niemand.

Einen Vorzug hat freilich das Remysche Verfahren: Es setzt sich aus lauter Hantierungen zusammen, die zwar meist recht zeitraubend sind, aber dafür keinerlei höhere Schulbildung, kein naturwissenschaftliches Studium, keine Spur von bakteriologischen Kenntnissen voraussetzen[1]; wer also über einen geeigneten dienstbaren Geist verfügt, der kann diesen in kurzer Zeit für die Methode eindrillen und sich selbst im übrigen wissenschaftliche Arbeit vornehmen. Auch dieser Vorzug ist stark relativ — schließlich kann man selbst dienstbare Geister nutzbringender beschäftigen, als mit Arbeiten, von denen man im voraus weiß, daß Brauchbares dabei nicht herauskommt.

Die Bodenbakteriologie wird also gut tun, sich beizeiten andere Wege zu suchen.

Um festzustellen, wie ein Boden mittels seines Bakterien- etc. Gehaltes, sei es im gegenwärtig gegebenen Zustande, sei es nach einer besonderen Art von Behandlung oder Düngung, bei höherem oder geringerem Feuchtigkeitsgrad usw., auf die Zersetzung organischer Substanz, wie er insbesondere auf die Wandlungen des Stickstoffs einwirkt — dafür ist ja die Remysche Methode bequemer, aber auch wegen der abnormen Lebensverhältnisse, mit denen sie arbeitet, wesentlich ungenauer als die Analyse des Bodens selbst auf die stattgehabte Umsetzung. Letzteres Verfahren bietet analytisch größere Schwierigkeiten, aber wir sehen doch so einigermaßen, wie die Vorgänge im natürlichen Substrat sich abspielen, nicht in einer mit der zehnfachen Wassermenge überschwemmten kleinen Probe. Vor allem werden wirkliche Unterschiede in der bakteriellen Tätigkeit des Bodens im Boden selbst weit reiner und richtiger zum Ausdruck kommen, als in den nivellierenden Verhältnissen der Wasserkultur — unbeschadet gelegentlicher Uebereinstimmungen. Für die in Frage kommenden Umsetzungen ist ja neben der chemischen auch besonders die physikalische Beschaffenheit des Bodens ausschlaggebend, diese aber wird im flüssigen Nährsubstrat vollständig ausgeschaltet.

Solche Untersuchungen geben uns also sowohl theoretisch wie praktisch weit brauchbarere Anhaltspunkte als die künstlichen Kulturen in Flüssigkeit. Aber: sie haben mit Bakteriologie herzlich wenig zu schaffen, ihre Methodik ist rein chemisch-analytisch, es kann sie ausführen, wer Bakterien nicht einmal vom Hörensagen kennt. Untersuchungen derart könnten und müßten gemacht werden, auch wenn es niemals einen Ferdinand Cohn, einen Beijerinck und Winogradsky gegeben hätte. Darum lehren sie uns bakteriologisch auch nur sehr Empirisch-Allgemeines, sie geben uns Rätsel auf, die schließlich doch nur die biologische Bakterienforschung wird lösen können.

---

[1] Löhnis schilt auf das öde Zählen der Keime; das scheint mir etwas subjektiv. Beim Durchsehen von Platten kann man sich recht viel denken — während der Stickstoffbestimmung würde der bloße Versuch, an etwas Wissenschaftliches denken zu wollen, sich alsbald böslich rächen.

Daß diese chemisch-analytischen Bodenstudien zu einem praktischen Ergebnis bezüglich der Bodenvergleichung und Bodenbeurteilung (wie sie die Remysche Methode anstrebte) führen werden, können wir zurzeit nicht sagen. Ob es für die Fruchtbarkeit eines Bodens ausschlaggebend ist, wie groß seine „Fäulniskraft“, sein „Nitrifikationsvermögen“ etc. sich zeigt, das scheint einigermaßen fraglich, mindestens, soweit ein einfaches, gerades Verhältnis gesucht wird. Vielleicht kommt es auch nur auf den Kalkgehalt des Bodens hinaus, der einfacher auf direktem Wege zu bestimmen sein wird. Kann sein, daß es zukünftigen Forschungen gelingt, brauchbare Beziehungen zwischen der Umsetzungsenergie der Böden und ihrer Ertragsfähigkeit ausfindig zu machen, welche die Mängel eines Bodens rascher und sicherer erschließen, als die rein chemische Bodenanalyse; wahrscheinlich ist es nicht. Zurzeit wird der Landwirt wenig damit anzufangen wissen, wenn er erfährt, daß sein Acker um 17,38 Proz. schwächer nitrifiziere und um 13,76 Proz. stärkere Fäulniskraft habe, als ein anderer Boden — gleichgültig, ob diese Tatsache auf dem Wege der Flüssigkeitskultur nach Remy-Löhnis oder auf dem der Bodenanalyse gewonnen ist. Es ist doch von vornherein gar nicht zu bezweifeln, daß auch nach letzterem Verfahren auch einmal der minder fruchtbare von zweien Böden den größeren Ausschlag geben kann.

Denken wir uns z. B. einen Boden, der alle Pflanzennährstoffe in reichlicher Menge und in assimilierbarer Form, aber nur wenig Karbonat enthält, in bezug auf sein Nitrifikationsvermögen verglichen mit einem weit nährstoffärmeren, aber sehr kalkreichen Boden. Der letztere wird (d. h. seine Bakterien werden) große Mengen von schwefelsaurem Ammoniak in Salpeter umwandeln können, der erstere nur einen geringen Prozensatz davon. Denn die Nitrifikation im Boden verläuft nach der Gleichung:

$$\underset{\text{schwefels. Ammon.}}{(NH_4)_2SO_4} + \underset{\text{kohlens. Kalk}}{2\,CaCO_3} + \underset{\text{Sauerstoff}}{4O_2} =$$

$$\underset{\text{schwefels. Kalk}}{CaSO_4} + \underset{\text{salpeters. Kalk}}{Ca(NO_3)_2} + \underset{\text{Kohlensäure}}{2\,CO_2} + \underset{\text{Wasser}}{4\,H_2O}$$

Ist jedoch die für den ersteren Fall angenommene geringe Menge von kohlensaurem Kalk verbraucht, dann würde freie Säure entstehen:

$$\underset{\text{schwefels. Ammon.}}{(NH_4)_2SO_4} + \underset{\text{Sauerstoff}}{4\,O_2} = \underset{\text{Salpetersäure}}{2\,HNO_3} + \underset{\text{Schwefelsäure}}{H_2SO_4} + \underset{\text{Wasser}}{2\,H_2O}$$

Da aber die Nitrobakterien gegen freie Säure äußerst empfindlich sind, so müßte die Nitrifikation zum Stillstand kommen, lange bevor die gegebene Menge von Ammoniumsulfat umgewandelt ist (nach obiger Gleichung würden je 2 g schwefelsaures Ammoniak rund 3 g kohlensauren Kalk zur vollen Nitrifikation erfordern). Unser vergleichender Versuch aber wäre zuungunsten des besseren der beiden Böden ausgefallen! Mit dem Fäulnis- etc. Versuch wäre es nicht viel anders. Für alle bakteriellen Stickstoffumsetzungen kommen überdies vielfach physikalische Zustände mit in Frage, die sich im Laboratoriumsversuch in der kaum zu wünschenden Uebereinstimmung mit natürlichen Verhältnissen herstellen lassen.

Ein geringerer Ernteertrag kann — ganz abgesehen von der außerhalb der Bodenverhältnisse liegenden — sehr verschiedene Ursachen haben. Ob diese auch auf die bakterielle Aktivität im gleichen Grade herabdrückend wirken, das ist zurzeit ungewiß, und auf welche von den vielen möglichen Ursachen ein analytisch festgestelltes abnormes bakterielles Verhalten schließen läßt, ohne diesen Ursachen im einzelnen nachzuforschen, das wissen wir nicht und werden es wohl niemals wissen. Denn auch das bakteriell abnorme Verhalten ist, wie ein verminderter Ernteertrag, nur ein Symptom, eine zunächst unverständliche Einzelwirkung, aus ihrem tieferen Kausalzusammenhang herausgelöst und ohne dessen Kenntnis nicht verwertbar. Erst wenn wir diesen Zusammenhang enträtselt haben, werden wir den Wert jenes einen Symptomes richtig einschätzen können. Das Urteil aber wird höchstwahrscheinlich dahin lauten, daß für die praktische Vergleichung und Bewertung der Böden die recht mühsame und zeitraubende Arbeit, die Feststellung der relativen bakteriellen Aktivität, unnütz aufgewendet war; wohlgemerkt: unnütz für den hier genannten Zweck, keineswegs unnütz überhaupt, denn, wie schon hervorgehoben, ist die analytische Verfolgung der Umsetzungen des Stickstoffes in verschiedenen Bodenarten nichts weniger als überflüssig, vielmehr ein wichtiger Zweig der wissenschaftlich-praktischen Boden- und Düngerlehre.

Um die boden-bakteriologische Forschung in diejenigen Bahnen zu leiten, in welchen sie berufen ist, dauernde Erfolge zu erzielen, müssen wir uns zwei Fragen vorlegen: erstens, wo liegen die empfindlichsten Lücken unserer Erkenntnis? zweitens, welche Wege haben denn in anderen Zweigen der Bakteriologie sich als erfolgreich erwiesen?

Beide Fragen weisen uns auf einen Punkt, auf die Einzelforschung. Das Arbeiten mit den im Boden vorhandenen, sehr mannigfaltigen Bakteriengemischen, oder mit den Mischkulturen, die in flüssigem Nährsubstrat aus eingeimpftem Boden sich entwickeln, bringt uns den bakteriologischen Aufgaben nicht wesentlich näher. Hier können uns alle anderen Zweige der angewandten Mikrobiologie den Weg weisen; sie alle, ohne Ausnahme, haben unfassende Erfolge erst dann zeitigen können, wenn die Einzelforschung wenigstens bis zu einem gewissen Abschluß gelangt war. So allen voran die Lehre von den Ursachen, der Bekämpfung und der Verhütung der Infektionskrankheiten der Menschen, Tiere und Pflanzen, die höchst wichtige biologische Wasseranalyse, die wissenschaftliche Technik des Molkereiwesens und der verschiedenen Zweige der Gärungsgewerbe, so schließlich auch die Verwendung der Leguminosenknöllchenbakterien, die eben als solche, nicht bloß in ihrer letzten Wirkung studiert werden mußten, ehe etwas für die Praxis Brauchbares herauskommen konnte.

Selbstredend wird die künftige bodenbakteriologische Forschung niemals einseitig botanisch sein, d. h. sich mit der Feststellung äußerlich beschreibender Tatsachen bezüglich der einzelnen Bakterien-etc.-Arten begnügen dürfen. Aber: „einseitig“ und „botanisch“, das sind zwei Worte, die sich so nebeneinander etwas seltsam ausnehmen. Leider kennen ja freilich die meisten den „Botaniker“ nur als einen verschrobenen Herrn, der mit der grünlackierten Blechtrommel auszieht, um Pflanzen zu sammeln und sie, fein gepreßt, im Herbarium aufzustapeln. Daß die Botanik eine äußerst vielseitige Wissenschaft darstellt, das wissen nur wenige Eingeweihte. Der weitverbreiteten Geringschätzung entspricht aber ganz die Rolle, zu welcher heute noch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Botanik in der Landwirtschaftswissenschaft verurteilt ist, sehr zum Schaden der letzteren! Es würde zu weit führen, wollte ich mich hier über die vielerlei Beziehungen der botanischen Forschung zur praktischen Landwirtschaft verbreiten. Nur eines: die Botanik der Bodenorganismen würde folgende Gesichtspunkte umfassen: Kenntnis, wenn nicht aller, so doch der wichtigsten unter den die verschiedenen Böden bewohnenden Bakterien, Schimmelpilzen, Algen (neben welchen auch das niedere Tierreich nicht vernachlässigt werden dürfte); Studien über Vererbung und Variation, über die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse, namentlich der einander nahestehenden, vielleicht durch Variation aus gemeinsamer Basis hervorgegangenen Formen; Kenntnis der Arten nicht nur nach den äußeren Merkmalen, sondern auch nach allen physiologischen Eigenschaften, unter welchen die chemischen Leistungen besonders interessieren würden; Bedingungen des Vorkommens der verschiedenen Bakterien in den verschiedensten Bodenarten und Bodentiefen; Abhängigkeit der Bakterienflora in ihrer Zusammensetzung von den chemischen und physikalischen Eigenschaften und Veränderungen der Böden; Abhängigkeit von sonstigen äußeren Bedingungen, wie sie durch Klima, Witterung, Jahreszeit, durch Bearbeitung, Düngung und Bestellung des Bodens gegeben sind (also eine Art „Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage“); gegenseitige Beeinflussung der Mikroorganismen unter sich in Vorkommen und Verbreitung, und desgleichen in Wechselwirkung mit höheren Pflanzen, Kulturgewächsen wie Unkräutern (die neuerdings so genannte „Oekologie“); Einfluß der Bakterien etc. auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens, insbesondere auch auf die Zerstörung der organischen Substanz, auf die Bildung des Humus in seinen verschiedenen Formen und auf die weitere Zersetzung der Humusstoffe. Studien über die Verbreitung der Arten und über die Zusammensetzung der Bakterienflora in verschiedenen Böden dürften in erster Linie berufen sein, zu einer wirklich brauchbaren Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung, für praktische Zwecke, zu führen. — Mir scheint, unsere kleine, vielleicht noch nicht einmal vollständige Uebersicht über die Ziele der botanischen Bakteriologie des Bodens gibt ein recht vielseitiges Bild und läßt nur wenige Fragen der wissenschaftlich-praktischen Bodenkunde unberührt!

In die überwiegende Mehrzahl der Bodenfragen spielt also die Bakteriologie sehr bedeutsam mit hinein — darum ist der Ruf nach Gleichstellung des Bakteriologen mit dem Chemiker und Physiker nicht nur berechtigt, sondern selbstverständlich. Zurzeit gibt es, sehr zum Nachteil unseres Forschungsgebietes, hier fast nur Durchgangsstellen! Was wäre wohl aus der medizinischen Bakteriologie geworden, wenn es ihr ebenso ergangen wäre?!

Aus manchem, was oben gesagt wurde, geht hervor, daß wir in den wichtigsten Fragen noch von recht weit unten anzufangen haben werden, wollen wir die Dinge nicht nur oberflächlich betrachten, sondern zu einer wirklichen und nutzbaren Lösung gelangen. Aber freilich, über einen Punkt dürfen wir uns keinen Illusionen hingeben: das Grundlegen in wissenschaftlichen Dingen, selbst wenn sie der Praxis zu dienen bestimmt sind, ist und bleibt, trotz der meist größeren Mühsamkeit, ein weit undankbareres Beginnen, als die Uebertragung des Gewonnenen auf die Praxis. Viele, sehr viele wissen wenigstens etwas von den wirklich hervorragenden, aber auch nach Gebühr anerkannten Verdiensten Robert Kochs; über die mindestens ebenso großen Verdienste

Ferdinand Cohns, des Vaters der Bakteriologie, sind nur wenige unterrichtet. — Alle Welt spricht von Marconis drahtloser Telegraphie; daß ein deutscher Physiker, Heinrich Hertz, der eigentliche Entdecker war, wie vielen ist das bekannt? Mit den „Röntgenstrahlen“ ist es auch nicht viel anders ergangen, und so weiter in infinitum. So meine ich, wollen wir uns damit zufrieden geben, wenn es uns nur überhaupt ermöglicht wird, in leidlichen Existenzbedingungen unseren Forschungen nachzugehen, ein jeder in der Richtung, in welcher er die Wissenschaft zu fördern am meisten befähigt ist. „Auch der sei stolz, der sonder Preis des Denkens Kampf gefochten“ — singt Scheffel.

Weil wir aber in so vielen Fragen der Bodenbakteriologie noch Grund legen müssen, deshalb scheint mir eine von Löhnis wiederholt aufgestellte These nicht ganz einwandsfrei: daß jede bodenbakteriologische Untersuchung mit einem entsprechenden Feldversuch Hand in Hand gehen müsse. Das ist doch wohl noch sehr Zukunftsmusik, außer in denjenigen Fragen, welche die Leguminosen und ihre Knöllchenbakterien betreffen. Topfversuche freilich sind unter fast allen Umständen ein in der Bakteriologie möglichst zu vermeidender Notbehelf. Und so viel ist ohne weiteres zuzugeben, daß jede bezügliche Arbeit an einen Boden anknüpfen sollte, den man wenigstens einigermaßen kennt, sowohl in chemisch-physikalischer Hinsicht, wie in historischer, d. h. bezüglich derjenigen Bearbeitung, Düngung und Bestellung, die das Ackerstück in den letzten Jahren erfahren hat. Eine jede Arbeit in der oben charakterisierten, pflanzengeographisch-ökologischen Richtung würde sogar, wenn anders sie zu exakten Ergebnissen führen soll, eine sehr genaue Kenntnis aller jener Bodenfaktoren vorauszusetzen, denn von ihnen allen ist die Bakterienvegetation abhängig, sehr wahrscheinlich[1]) ist sie sogar ein feineres Reagens als die chemischen etc. Untersuchungsmethoden. — Dazu bedarf es aber keines großen eigenen Versuchsfeldes für die Bakteriologie (außer wo Anbauversuche mit Hülsenfrüchten vorgenommen werden sollen); eine solche Forderung scheint mir in Rücksicht auf die Zukunft der Bodenbakteriologie geradezu bedenklich, weil sie die dringend wünschenswerte Hebung unseres Forschungszweiges bedeutend erschweren würde. Wegen einer Handvoll Bodens bedarf es keines großen eigenen Versuchsfeldes. Gewiß hängen solche Dinge, wie die Brachefrage, aufs engste mit bakteriellen Vorgängen zusammen, aber über diese Frage ist schon wissenschaftlich gearbeitet worden, ehe man von den bakteriologischen Beziehungen wußte. Letztere Erkenntnis hat nun freilich auch die Brachefrage wieder in Fluß gebracht. Zunächst kann es sich aber hier auch nur darum handeln, die geringen für bakteriologische Untersuchungen nötigen Bodenmengen zur Verfügung zu haben, nicht aber, spezielle Ergebnisse der bakteriologischen Forschung auf größeren Flächen praktisch auszuprobieren; soweit sind wir eben noch nicht.

Und noch ein weiteres möchte ich gegen Löhnis zur Sprache bringen. Dieser schreibt (11, p. 790/91) wider Rahn (13) und dessen Einwände gegen die Remy-Löhnissche Methode: „Indessen dürfte doch in Anbetracht der Stellung, welche die landwirtschaftliche Bakteriologie gegenwärtig in Deutschland und speziell in den landwirtschaftlichen Versuchsstationen im allgemeinen noch einzunehmen gezwungen ist, eine entsprechende Richtigstellung nicht gänzlich überflüssig sein, um so mehr, als es sich hier um eine Veröffentlichung aus dem bakteriologischen

---

[1]) Das dürfen wir unter anderem aus den Anhäufungsversuchen von Beijerinck u. a. schließen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Laboratorium einer Versuchsstation handelt.“ Das klingt ja fast wie ein moralischer Vorwurf, daß man seiner wissenschaftlichen Ueberzeugung Ausdruck verliehen, und sie nicht sorgfältig verschwiegen habe, weil offenes Aussprechen der guten Sache schaden könnte. Nun ist es ja gewiß richtig: die unbezwingliche Wahrheitsliebe ist eine böse Mitgabe auf den Lebensweg, und ehrlich währt's am längsten, ehe man's zu etwas bringt. Gewiß gibt es Fälle genug, wo es von einem Menschen geradezu verlangt wird, seine Ueberzeugung, selbst seine wissenschaftliche, nach Gründen der Opportunität zu modifizieren; aber was könnte das in unserem Falle für einen Zweck haben? Wenn wir coram publico verkünden, wir hätten eine praktisch brauchbare Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung, so wird die nächste, unvermeidliche Folge sein, daß wir vor ein „Hic Rhodus, hic salta!“ gestellt werden — und dann? Was für „Sprünge“ die Bodenbakteriologie zurzeit machen kann, das wissen wir doch.

So dürfte es wohl hier — ausnahmsweise — angebracht sein, der Wahrheit die Ehre zu geben und einzugestehen, daß wir noch kein geeignetes bakteriologisches Verfahren besitzen. Gegen diejenige Methode, in welche man eine Zeitlang Hoffnungen setzte, sind so schwerwiegende Bedenken ausgesprochen worden (z. B. auch von der Bakteriologischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt — die ausführliche Veröffentlichung steht noch aus), daß ein weiterer Fortschritt auf diesem Wege nicht zu erwarten ist. Gerade weil wir auf praktisch-nutzbare Gesichtspunkte hinstreben, erscheint es mir als eine patriotische Tat, vor einem Wege zu warnen, der in die Irre führt. Wissenschaftliche Forschung ist nun einmal ohne Baarmittel nicht möglich; diese wollen wir aber doch, soviel an uns liegt, tunlichst in einer Richtung verwenden, welche wirklichen Erfolg verspricht. Das Geständnis, daß wir in gutem Glauben an erhoffte praktische Resultate (ohne eine starke Dosis Optimismus geht es nun einmal nicht!) einem Pfade gefolgt sind, der uns zum Ziele zu führen schien, aber hernach als Holzweg erkannt wurde — dieses Geständnis wird uns bei einsichtigen Männern nicht schaden. Solche Kinderkrankheiten hat jeder Zweig menschlicher Forschung und Technik durchzumachen; und hier ist das Erkennen schon die Heilung.

Die Kinderkrankheit ist so gut wie überstanden; das Kind ist zwar infolge von Unterernährung stark anämisch und, gegenüber der medizinischen Schwester, im Wachstum sehr zurückgeblieben, aber es ist im Kern gesund und bei etwas liebevoller Pflege, kräftigerer Kost und ausreichender Bewegung wird (oder muß es heißen „würde“?) es sich rasch erholen und seinen Pflegern noch viele Freude machen. — Drei Bedingungen sind es, an welche die gedeihliche Entwickelung eines Forschungszweiges gebunden ist: Erstens müssen die wissenschaftlich Arbeitenden, sofern sie den Befähigungsnachweis zu eigenem Denken und Forschen erbracht haben, in der Lage sein, die Wege zum Ziel sich selbst suchen zu dürfen — ein Verfahren, das sich noch überall glänzend bewährt hat; die oben erwähnten Arbeiten von Hertz über die elektrischen Wellen wären schwerlich noch besser geworden, wenn er unter ständiger Kontrolle eines Telegraphenbeamten gearbeitet hätte. — Zweitens muß der wissenschaftlich Arbeitende in der Lage sein, den überwiegenden Teil der physisch möglichen Arbeitszeit wirklich wissenschaftlich, und in der Richtung zu arbeiten, in welcher er sein Bestes zu leisten imstande ist. — Drittens, glaube ich, es muß sich am besten und erfolgreichsten arbeiten lassen, wenn nicht die Sorge um die nächste Zukunft, die eigene

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

und die der engsten Angehörigen, bei Tage die Gedanken, bei Nacht die Ruhe fortnimmt.

Literatur.

1) **Bredemann**, G., Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter. (Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XXVI a. 1908. p. 362.)
2) **Christensen**, H. R., Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XVII. p. 109, 161, 378, 528) und Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden (ebd. Bd. XIX. 1907. p. 735).
3) **Coleman**, L. C., Untersuchungen über Nitrifikation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 38.)
4) **Fischer**, **Alfred**, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXV. 1900. p. 1.)
5) **Fischer**, H., Ueber Symbiose von Azotobacter mit Oscillarien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 267.)
6) **Gutzeit**, E., Einwirkung des Hederichs auf die Nitrifikation (Ebd. Bd. XVI. 1906. p. 358).
7) **Keding**, M., Weitere Untersuchungen über stickstoffbindende Bakterien. (Wissensch. Meeresuntersuchungen. Bd. IX. Kiel 1906. p. 275.)
8) **Lipman**, J. G., und **Vorhees**, E. B. in 26. Annual Report of the New Jersey State Agric. Experim. Station f. the year 1905.
9) **Löhnis**, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262, 448.)
10) **Löhnis**, F. und **Parr**, A. E., Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 518.)
11) **Löhnis**, F. und **Pillai**, N. K., Ueber stickstoffixierende Bakterien. III. zugleich 4. Beitrag zur Methodik der bakteriol. Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 781.)
12) **Pfeiffer**, Th., Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. Berlin 1904.
13) **Rahn**, O., Bakteriologische Untersuchungen über das Trocknen des Bodens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 38.)
14) **Remy**, **Th.**, Bodenbakteriologische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI 1902. p. 657) und Bodenchemische und bakteriologische Studien. (Landwirts Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Ergänzungsbd. IV. p. 1.)
15) **Schulze**, C., Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen. (Landw. Vers.-Stationen. Bd. LXV. 1906. p. 137.)
16) **Stockhausen**, F., Oekologie, Anhäufungen nach Beijerinck. Berlin (Institut f. Gärungsgewerbe) 1907.
17) **Wohltmann**, F., **Fischer**, H., **Schneider**, Ph., Bodenbakteriologische und bodenchemische Studien aus dem Versuchsfelde. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. LII. 1904. p. 97.)
18) **Wortmann**, J., Die wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft. Berlin 1905; zuerst in Weinbau und Weinhandel. 1902; vergl. auch **Lindner**, P., Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XVII. 1900. p. 173.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Nouvelles recherches sur les fermentations visqueuses[1]).

Von **H. van Laer**.

Aus der Mitteilung an die Versuchs- und Lehranstalt zu Berlin, 16. Oktober 1908.

Schlußfolgerungen.

1) Die Eigenschaft des Bacillus viscosus Bruxellensis, die Bierwürze fadenziehend zu machen, ist in hohem Maße durch die Reaktion

---

1) Bull. de l'acad. royale de Belgique. 1908. p. 901—921.

des Nährbodens beeinflußt. Ein Zusatz ganz minimaler Mengen Soda zu einer Würze erhöht den Viskositätsgrad der mit dem Mikroben besäten Flüssigkeit beträchtlich. Es existiert für jede Würze eine Reaktion, bei welcher der Grad der Viskosität seinen höchsten Wert (Optimum) erreicht, und eine andere Reaktion, bei welcher die visköse Funktion aufgehoben ist, ohne daß jedoch der Mikrobe aufhört, seine „saure Funktion“ auszuüben.

2) Säuren schwächen und verhindern sogar, wenn sie in genügender Menge vorhanden sind, die Tätigkeit des Bacillus viscosus Bruxellensis.

Die durch Alkalien und Säuren auf die Würzegallerte unter dem Einflusse des studierten Mikroben ausgeübte Wirkung ist mit derjenigen identisch, welche man bei den Enzymen beobachtet.

3) Man kann mittels Zusatzes von Soda oder Kreide zu einer fadenziehend gewesenen Würze eine zweite visköse Gärung hervorrufen; bei Zusatz von Calciumkarbonat ist das Fadenziehen andauernd und besonders intensiv. Der Zeitraum, in welchem diese „zweite“ visköse Gärung sich vollzieht, ist sehr verschieden.

4) Die in den fadenziehenden Würzen unter dem Einflusse des Acetons gebildeten Niederschläge schließen eine beträchtliche Menge von Asche ein.

Diese Eigentümlichkeit und noch andere, wie z. B. die große Viskosität der Würzen bei der auf Kreidezusatz erfolgenden zweiten viskösen Gärung, bringen für den Augenblick das Gallertigwerden der Würzen den bekannten Erscheinungen diastatischer Koagulation nahe; das Verschwinden der Viskosität kann vorläufig mit einer Dekoagulation verglichen werden.

5) Obgleich das Vorhandensein einer Diastase (Viskase), welche die Eigenschaft besitzt, die Würzen gallertig zu machen, nicht in den toten Zellen hat entdeckt werden können, findet man in den lebenden Zellen, welche die untersuchte spezifische Erscheinung hervorbringen, die fundamentalen Eigenschaften der Enzyme.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Ball, O. M., A contribution to the life history of bacillus (Ps.) radicicola Beij., p. 47.

Bierberg, W., Ueber den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen, p. 12.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.,** Ueber die Selbsterhitzung des Heues, p. 106.

Bredemann, G., Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien, p. 41.

v. Brusendorff, M. G., Ein Ameisensäure bildendes Mycoderma, p. 10.

Buchanan, Robert Earle, The Bacteroids of Bacillus radicicola, p. 58.

Burri, R. und **Holliger, W.,** Zur Frage der Beteiligung gasbildender Bakterien beim Aufgehen des Sauerteigs, p. 99.

Burri, R. und **Thöni, J.,** Ueberführung von normalen, echten Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen, p. 32.

Fischer, Hugo, Besitzen wir eine brauchbare Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung? p. 144.

Kieffer und **Herbst, P.,** Ueber einige neue Gallen und Gallenerzeuger aus Chile, p. 119.

Kohn, Eduard, Zur Methodik der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung, p. 126.

Söhngen, N. L., Ureumspaltung bei Nichtvorhandensein von Eiweiß, p. 91.

Wolff, Max, Ueber das Auftreten der Mayetiola destructor Say (Hessenfliege) im Jahre 1908. nebst Bemerkungen über Larve, Puppenhülle und Imago, p. 109.

Yégounow, Michel, Poids moléculaire et la forme des corps. Travail du poids moléculaire, p. 1.

Originalreferate aus bakteriol. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

van Laer, H., Nouvelles recherches sur les fermentations visqueuses, p. 159.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 30. März 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 6|9.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Azotobacter chroococcum [1]).

[Aus dem Institut für Agrikulturchemie der Jagellonischen Universität in Krakau (Direktor: Prof. Dr. E. Godlewski sen.)]

Von **Seweryn Krzemieniewski.**

I.

Dem Azotobacter wird heutzutage unter allen anderen Organismen die größte Fähigkeit zur Stickstoffbindung zugeschrieben. Indessen ergeben die Versuche mit demselben ebenso divergierende Resultate, wie sie vor bereits 7 Jahren in der Arbeit von Beijerinck und van Delden einerseits und denen von Gerlach und Vogel andererseits zum Ausdruck gekommen sind.

Nur in einem Punkte stimmen alle Forscher überein, nämlich, daß Azotobacter-Rohkulturen den elementaren Stickstoff viel energischer zu binden vermögen als Reinkulturen. Begründet wird diese Tatsache teils mit der Anwesenheit noch anderer Mikroorganismen in den Rohkulturen, teils damit, daß der Azotobacter infolge einer längeren künstlichen Züchtung an seiner Fähigkeit, den Stickstoff zu binden, erheblich einbüßt. Doch weder die eine, noch die andere Erklärung ist stichhaltig. Es gibt keine unwiderlegbaren Beweise dafür, daß der Azotobacter mit dem Alter seine Stickstoffbindungsfähigkeit verlöre; ebenso unzulänglich sind die Belege dafür, daß die Gegenwart anderer Organismen die Leistungsfähigkeit des Azotobacter in der besagten Beziehung steigern sollte. Schließlich sind in den letzten Zeiten krasse Widersprüche über den Chemismus des Stoffwechsels in Azotobacter-Kulturen zum Ausdruck gekommen.

Da wir in den Reinkulturen des Azotobacter, welcher aus dem Boden des Versuchsfeldes in Krakau isoliert worden ist, stets nur sehr geringe Stickstoffgewinne beobachten konnten, so sahen wir uns veranlaßt, in erster Linie die Ursachen der quantitativ verschiedenen Leistungsfähigkeit von Roh- und Reinkulturen festzustellen. Um aber gleichzeitig den Prozeß des Stoffwechsels in den verschiedenen Kulturen zu ergründen, haben wir unsere Versuche in Prof. Godlewskis (sen.) verschlossenen Apparaten durchgeführt, die bekanntlich die Möglichkeit bieten, gleichzeitig die von den Organismen aufgenommene Sauerstoffmenge, sowie die von denselben ausgeschiedene Kohlensäuremenge zu bestimmen. Die Sauerstoffzufuhr zu den Apparaten war dermaßen geregelt, daß die von den Organismen allmählich verbrauchte Menge wieder ersetzt wurde.

Doch um die Bilanz des gesamten Gaswechsels aufzustellen, mußte

---

1) Die ausführliche Abhandlung ist der Krakauer Akademie der Wissenschaften in der Sitzung vom 6. Juli 1908 vorgelegt worden. Vergl. Bulletin de l'Acad. de Sc. de Cracovie. Novembre 1908. [Deutsch.]

man die Gasproben genau analysieren, die dem Apparat am Ende eines jeden Versuches entnommen wurden. Man mußte nämlich mit der Möglichkeit rechnen, daß Wasserstoff abgeschieden oder daß das Kohlendioxyd nicht gänzlich in den Kaligefäßen der Apparate absorbiert wurde. Es wurden also regelmäßig je einige Proben der Gase nach ihrer Ueberführung aus den Apparaten in die Eudiometer der Analyse unterworfen.

Im ganzen wurden 28 solche Versuche ausgeführt; sie lassen sich in 7 Serien ordnen.

Die erste Serie umfaßt die Versuche mit Rohkulturen, erhalten durch Impfen der N-freien Nährlösung mit frischer Erde. Bei diesen Versuchen ließ sich erhebliche Stickstoffabnahme in der in den Apparaten verschlossenen Luft und entsprechend Stickstoffzuwachs in der Kultur konstatieren.

Aehnliche Resultate ergaben die Kulturen, die man erhielt dadurch, daß man zur Nährlösung den Azotobacter und pasteurisierte, d. h. von nichtsporenbildenden Organismen befreite Erde hinzugab (Serie II).

Wurde dagegen die Nährlösung nur mit der Kahmhaut von Rohkulturen der ersten Serie versetzt, so ergab sich beträchtlich niedrigerer Stickstoffzuwachs (Serie III).

Diese Ergebnisse wiesen darauf hin, daß die Gegenwart von Erde in der Kultur einen gewissen fördernden Einfluß auf die Stickstoffbindung seitens der Bakterien ausübt.

Einen vollen Beweis für eine solche Annahme liefern die beiden folgenden Versuchsserien. Zur IV. Serie gehören die Versuche mit Azotobacter-Reinkulturen auf gewöhnlicher Nährlösung, zur V. Serie dagegen die Versuche an einer Nährlösung mit Zusatz von sterilisierter Erde. Erstere zeigen trotz verhältnismäßig viel längerer Versuchsdauer ungleich geringere Stickstoffgewinne als letztere, bei denen sich der Azotobacter bei Gegenwart von Erde entwickelte. Der maximale Stickstoffgewinn beträgt nämlich bei Kulturen ohne Erde kaum 1,6 mg, bei solchen mit Erde erreicht er 8,5 mg.

Nachdem nun einmal so der außerordentlich fördernde Einfluß der Erde auf Stickstoffbindung seitens des Azotobacter bestätigt worden war, mußte man sich in der Folge klar werden über die Frage, welchem von den Bestandteilen der Erde man eigentlich diesen Einfluß zuschreiben sollte.

Darüber geben die beiden letzten Versuchsserien Aufschluß. Aus ihnen folgt nämlich, daß die wasserlöslichen Bestandteile fast gar nicht auf den Azotobacter einwirken, daß dagegen die Humussäureverbindungen einen äußerst starken Einfluß ausüben, die in dieser Beziehung sich nicht durch künstlich aus Zucker erhaltene Produkte ersetzen lassen (Versuch 24).

Die allgemeine Zusammenstellung aller dieser Versuche geben wir auf Tabelle I, wo außer dem Impfmaterial (Kolumne 1), der Versuchsdauer (2) und der Kohlenstoffquelle in der Nährlösung (3), auch der Sauerstoffverbrauch (5) und die Kohlendioxydabscheidung (4) in Kubikzentimeter, der Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$, die Wasserstoffentwickelung (7), die Stickstoffabnahme in den Apparaten (8) und zum Schluß die Stickstoffgewinne in den Kulturen (9) angegeben sind. Die Zahlen der letzten Kolumne (10) bedeuten die Stickstoffgewinne pro 1 g verbrauchter Kohlenstoffquelle; als Maß hierfür nahm man die Menge des ausgeschiedenen Kohlendioxyds an.

Tabelle I.

Serie der Versuche	No. der Versuche	1 Impfmaterial und nähere Angaben über Zusammensetzung der Mannit- oder Glukosenährlösung	2 Versuchsdauer in Tagen	3 Kohlenstoffquelle in Nährlösung. Mannit (m), Glukose (g)	4 Ausgeschiedene Menge der Kohlensäure ccm	5 Verbrauchte Menge des Sauerstoffs ccm	6 Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$	7 Ausgeschiedene Menge Wasserstoff ccm	8 Luftstickstoffabnahme in Apparaten ccm =	mg	9 Stickstoffgewinne in Nährlösung mg	10 Stickstoffgewinne pro 1 g verbrauchter Kohlenstoffquelle mg
I	1	Frische Erde	37	m	958,74	888,27	1,08	120,29	12,57	15,71	16,87	10,8
	2		10	m	674,31	682,06	0,99	86,71	10,86	13,58	15,15	13,8
	3		37	m	1224,61	1244,60	0,98	80,46	6,32	7,90	16,24	8,2
II	4	Pasteurisierte Erde	20	m	752,24	1077,50	0,70	6,52	4,34	5,43	5,90	4,8
	5		25	m	526,69	429,01	1,23	8,26	8,66	10,83	13,56	15,8
III	6	Kahmhaut von Rohkultur	19	m	216,87	119,33	1,81	44,22	+ 2,91 ?	—	2,87	8,1
	7		19	m	364,71	346,80	1,05	3,78	2,25	2,81	4,76	8,0
IV	8	Azotobacter-Reinkultur	69	g	598,43	588,70	1,02	—	1,29	1,61	1,98	2,4
	9		69	g	627,04	612,42	1,02	—	1,20	1,50	1,27	1,5
	10		51	m	908,49	946,07	0.96	—	+ 0,16 ?	—	1,07	0,7
	11		31	g	181,60	179,37	1,01	—	0,07	0,09	0,28	1,1
	12		48	m	151,14	152,93	0,99	—	0,03	0,04	0,03	0,1
V	13	Azotobacter-Reinkultur mit sterilisierter Erde	20	m	857,22	1115,25	0,77	—	3,75	4,69	4,70	3,4
	14		25	m	719,31	835,51	0,86	—	6,81	8,51	7,68	6,6
	15		14	m	791,64	1002,31	0,79	—	2,52	3,15	6,93	5,4
	16		10	g	773,56	776,86	1,00	—	5,38	6,83	7,81	7,4
	17		9	m	484,15	492,56	0,94	—	2,36	2,95	6,48	8,2
VI	18	Azotobacter-Reinkultur mit wässerigem Bodenextrakt	14	m	183,12	199,33	0,92	—	+ 0,44 ?	—	0,98	3,3
	19		10	g	123,08	164,30	1,07	—	0,10	0,13	0,56	3,4
VII	20	Azotobacter in Reinkultur mit K-Humat	10	g	664,08	640,98	1,04	—	5,47	6,84	9,77	10,8
	21		7	m	686,73	756,68	0,91	—	10,24	12,80	11,03	9,9
	22	Na-Humat	37	m	905,42	968,17	0,94	—	10,50	13,13	16,04	10,9
	23	Ca-Humat	17	g	975,90	953,58	1,02	—	11,14	13,93	12,10	9,1
	24	Humat aus Zucker	37	m	248,83	262,81	0,95	—	0,13	0,16	1,18	2,9
	25	K-Humat	11	g	548,24	524,27	1,04	—	6,47	8,09	7,95	10,6
	26		11	m	489,36	530,11	0,92	—	8,56	10,70	8,16	10,3
	27		10	g	632,54	589,58	1,07	—	11,56	14,45	12,89	14,9
	28		22	g	572,54	547,18	1,04	—	6,39	7,99	9,31	12,0

Wenn man obige Zahlen durchsieht, und besonders wenn man die erste Serie mit der letzten vergleicht, so kann man die Beobachtung machen, daß der Azotobacter allein, ohne Mitwirkung anderer Organismen, ebenso viel Stickstoff zu binden vermag, wie die Rohkulturen, wenn man nur zur Nährlösung Humusstoffe zugibt, die ja die Rohkulturen in der dazugegebenen Erde besitzen.

Der Quotient $\frac{CO_2}{O_2}$ hängt von dem Atmungsmaterial ab. In Reinkulturen schwankt er ständig um 1 herum, und zwar ist er bei Mannit etwas kleiner, bei Glukose dagegen ein klein wenig größer. Ferner erhellt aus den Zahlen der letzten Kolumne, wie weit ökonomischer der Verbrauch an Atmungsmaterial bei Gegenwart von Humusstoffen, als ohne sie ist. Schließlich ist überhaupt der Unterschied zwischen Rein- und Rohkulturen auffallend klar. In Azotobacter-Rohkulturen (Serien I—III) findet eine Wasserstoffausscheidung statt, bei Reinkulturen findet sich H_2 gar nicht vor, wie es denn darin auch keine Säuren und Alkohol gibt, was sich durchaus nicht mit den Versuchsergebnissen von Stoklasa deckt[1]). Berücksichtigen wir die Mengen an ausgeschiedenem Wasserstoff in den Versuchen mit Azotobacter-Reinkulturen des genannten Forschers, so müßten wir davon nicht einmal bis 15 Proz. in den Apparaten vorfinden. Wir hätten demnach in den Eudiometern mit durchschnittlich 30 ccm Gasproben nach der Verpuffung mit Sauerstoff eine Volumabnahme um beinahe 7 ccm finden müssen. Wir konnten in den Eudiometern sogar 0,1—0,2 ccm CO_2 nachweisen, doch Wasserstoff haben wir in den Reinkulturen niemals konstatieren können.

Schon in der vorläufigen Mitteilung[2]) haben wir auf Grund mehrerer Versuche festgestellt, daß in Azotobacter-Reinkulturen eine Wasserstoffausscheidung überhaupt nicht stattfindet.

Die Resultate beurteilt Stoklasa aber folgendermaßen[3]):

> „Diese Angaben sind, wie aus unseren absolut verläßlichen Untersuchungen resultiert, ganz und gar haltlos und beruhen gewiß auf Operationsfehlern.“
>
> „Wir haben alsbald nach Erscheinen der ersten Arbeiten der beiden Krzemieniewski unsere Untersuchungen unter Beobachtung der größten Sorgfalt aller Details der experimentellen Operationen wiederholt **und neuerdings Wasserstoff konstatiert.**
>
> Wir können deshalb mit vollster Bestimmtheit sagen, daß bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Reinkulturen von Azotobacter sich Wasserstoff bildet.“

Als Stütze für seine Analysenergebnisse sieht Stoklasa die Versuche an, aus denen, was schon früher Beijerinck und van Delden nachgewiesen haben, die Ammonifikation von Salpeter durch den Azotobacter folgt. Die Teilnahme des Wasserstoffs und Alkohols, die bis jetzt von Stoklasa in ähnlichen Prozessen bei der intramolekularen Atmung angenommen wurde, soll jetzt eine notwendige Vorbedingung sein, ohne die eine Ammonisierung des Salpeters nicht erfolgen kann.

In Anbetracht dessen weisen wir noch auf unsere Versuche No. 23, 25 und 26 hin, aus denen man ohne irgend welche Analysen, ohne Inhaltsmessungen, sondern lediglich nur aus der Höhe der Quecksilbersäule in den Seitenröhren der Apparate schließen konnte, daß sowohl der Sauerstoff vollständig verbraucht wurde, als auch daß die in den Apparaten eingeschlossene Luft eine merkliche Stickstoffabnahme erleiden mußte.

Ja, es hätte sogar $^1/_{20}$ des Wasserstoffs, den Stoklasa gefunden haben will, genügt, um diese Stickstoffabnahme zu verdecken. Würde er sich nämlich in derselben Menge wie in Stoklasas Versuchen ausscheiden, so hätte das Quecksilber in den Seitenröhren unserer Apparate kaum bis zu derjenigen Höhe steigen können, die erst den halben Verbrauch des ganzen Sauerstoffs anzeigen würde.

Es sind dies reine Demonstrationsversuche, verblüffend einfach und leicht auszuführen; angesichts derselben wird vielleicht Stoklasa sein Urteil über unsere Untersuchungen ein wenig mildern.

---

[1] Berichte d. Deutschen Botan. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906. p. 22—32.
[2] Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. Krakau 1906 u. 1907.
[3] Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. No. 15/16 u. 20/21.

Unsere angeführten Versuche werfen noch das rechte Licht auf die Ergebnisse der allbekannten Forschungen von Beijerinck und van Delden, die angesichts der späteren Arbeiten hinfort nur historische Bedeutung zu behalten schienen.

Beijerinck und van Delden fügten häufig bei ihren Versuchen zur Nährlösung nicht allzu große Mengen von sterilisierter Erde hinzu, die sie für eine Quelle für den zur besseren Entwickelung der Kulturen nötigen Stickstoff ansahen.

Diese Zugabe von Erde zur Nährlösung oder ihr Fehlen hat unseres Erachtens eine entscheidende Wirkung auf die Versuchsergebnisse von Beijerinck und van Delden ausgeübt.

Das wollen wir nunmehr beweisen:

Zu diesem Zwecke wollen wir die in der Arbeit von Beijerinck ausgeführten Versuche in zwei Klassen ordnen, in solche Versuche mit Erdezusatz und solche ohne Erde.

Hierauf nehmen wir aus der Reihe der untersuchten Bakterien nur den Azotobacter und den Granulobacter als die zur Stickstoffbindung fähigen Bakterien heraus und teilen die beiden Versuchsklassen in Serien, je nach den Organismen, die sich in den Kulturen befanden. Um eine größere Uebersichtlichkeit zu erzielen, wollen wir alle Stickstoffgewinne, die Beijerinck und van Delden in den Kulturen gefunden haben, auf 100 ccm Nährlösung umrechnen, daneben geben wir aber auch die Versuchsnummern nach dem Original an (siehe Tabelle II).

(Siehe Tabelle II p. 166.)

Schon ein flüchtiger Blick auf diese Zusammenstellung genügt, um uns über die Rolle der Erde klar zu werden.

Ohne uns bei Serie I, die keine Versuche mit Azotobacter oder Granulobacter umfaßt, noch auch bei Serie II, in der kein Azotobacter, sondern nur Granulobacter gemischt mit anderen Bakterien vorlag, aufzuhalten, wollen wir sogleich zu den nächsten Serien übergehen, die das größte Interesse verdienen.

Serie III umfaßt die Versuche, in denen wohl Azotobacter, meistens zusammen mit anderen Bakterien, aber kein Granulobacter vorhanden war.

11 Versuche dieser Serie wurden mit Erde, 7 ohne Erde ausgeführt. Die Stickstoffgewinne in den Kulturen ohne Erde sind minimal, der größte beträgt 1,46 mg, während sie in den Kulturen mit Erde bis 8 mg reichen. Wir haben hier also einen schlagenden Beweis dafür, daß nicht die Anwesenheit des Radiobacter oder anderer Bakterien, sondern lediglich erst der Zusatz von Erde oder vielmehr die mit ihr eingeführten Humusstoffe den deutlichen Stickstoffzuwachs in Kulturen von Azotobacter herbeigeführt haben.

Wir meinen, wie es scheint mit Recht, daß, wenn mehr Versuche mit Azotobacter-Reinkulturen auf Nährlösung mit Erde und nicht nur eine vorliegen würde, die Schlußfolgerungen daraus ganz anders ausgefallen wären.

Noch mehr befestigt uns in dieser Ueberzeugung die Serie IV, der wir über die Hälfte der Beijerinckschen Versuche eingereiht haben.

Unter den 17 Versuchen dieser mit Nährlösung ohne Zusatz von Erde ausgeführten Versuchsserie fallen nur 2 (No. 18 und 26) durch beträchtlicheren Stickstoffzuwachs auf, während bei den übrigen der Zuwachs zwischen 0,2 und 3,0 mg schwankt. Durchschnittlich ist er jedoch

Tabelle II.

Serie	Impfmaterial	Nährlösung ohne Erde		Nährlösung mit Erde	
		No. des Versuches	Stickstoffgewinne mg	No. des Versuches	Stickstoffgewinne mg
I	Kein Azotobacter und kein Granulobacter	32	0,06	—	—
		33	1,32	—	—
		34	0,00	—	—
		35	0,13	—	—
II	Granulobacter-Arten, eventuell mit anderen Bakterien, aber kein Azotobacter	20	0,62	22	0,34
		—	—	23	3,21
		—	—	28	3,70
		—	—	29	1,04
III	Azotobacter, eventuell mit anderen Bakterien, aber kein Granulobacter	31 a	0,13	31 a	0,27
		31 b	0,00	39	3,49
		31 d	0,55	42	7,69
		36	1,18	43	7,97
		37	1,46	44	7,97
		38	0,83	60	0,83
		40	0,06	10	8,30
		41	0,83	—	—
		46	0,69	—	—
		59	0,62	—	—
		61	1,32	—	—
IV	Azotobacter mit Granulobacter, eventuell noch andere Bakterien	2	3,01	1	5,20
		3	2,31	4	2,40
		14	1,46	5	1,70
		18	7,62	6	2,59
		19	1,56	7	7,34
		24	2,22	8	8,23
		25	2,26	9	4,55
		26	6,99	10	13,85
		27	0,97	11	13,57
		45	0,55	12	7,13
		51	0,69	13	8,11
		52	2,51	15	11,12
		53	2,58	16	2,23
		55	0,20	17	6,64
		56	2,51	21	9,86
		57	1,25	30	7,27
		58	1,46	47	3,24
		—	—	48	3,01
		—	—	49	10,42
		—	—	50	8,18
		—	—	54	3,70

größer, als in der entsprechenden Reihe der vorhergehenden Serie, doch das ist auf die Gegenwart des Granulobacter zurückzuführen.

Was dagegen No. 26 anbelangt, so bezeichnen die Autoren selbst diesen Versuch als einen Ausnahmefall.

Die Versuche mit Zusatz von Erde weisen ständig erheblichen Stickstoffzuwachs auf, bei zweien sogar bis zu 14 mg. Mithin äußert sich auch hier der Einfluß der Erde sehr deutlich.

Bei Beijerinck und van Delden regte sich bei der Besprechung dieser Versuche eine ganze Reihe von Zweifeln, viele Resultate erschienen ihnen direkt unverständlich. Unter Hinweis z. B. auf die Versuche No. 39—44), bei denen Azotobacter mit Granulobacter kombiniert ist, unterstreichen die Forscher die äußerst ungleichmäßige Ausgiebigkeit derselben. Solche Unregelmäßigkeiten bei den Versuchen, in denen der Azotobacter mit Granulobacter kombiniert war, erklären sie damit, daß der Granulobacter bei der Züchtung unter Luftzutritt seine Fähigkeit zur Stickstoffbindung verliert. Die Tatsache schließlich der oft sehr geschwächten Stickstoffbindung bei Kombinationen von Azotobacter mit zwei anderen Bakterien, während ihre natürliche Zusammensetzung befriedigende Ergebnisse zeitigte, suchen sie durch die ungenügende Anpassung seitens der Organismen an die neuen Kulturbedingungen etc. zu erklären.

Fast alle diese Zweifel lassen sich zwanglos durch die verschiedene Zusammensetzung der Nährlösung erklären.

Nur da ergab sich beträchtlicherer Stickstoffzuwachs, wo sich in der Nährlösung Erde, also auch Humusstoffe, befanden, ohne Rücksicht darauf, ob neben dem Azotobacter und Granulobacter noch andere Organismen vorgelegen haben oder nicht.

So finden durch Beijerincks und van Deldens Versuche unsere Schlüsse betreffs der Bedeutung der Humusstoffe für den Azotobacter und eventuell den Granulobacter ihre volle Bestätigung; von ihrer Anwesenheit hängen die verschiedenen Stickstoffgewinne in den Rein- und Rohkulturen ab.

II.

Um die Wirkung der Humusstoffe, die in obigen Versuchen nachgewiesen worden ist, zu erklären, wurden umfassende Forschungen angestellt, die wir in dem folgenden Teil der Arbeit detailliert zusammengestellt haben.

Vor allem folgt aus ihnen, daß bei gleichbleibenden Mengen von Glukose in der Nährlösung der Stickstoffzuwachs in den Azotobacter-Kulturen bis zu einer gewissen Grenze zunimmt, je nach der Menge der zugesetzten Humusstoffe, und daß zugleich auch der Verbrauch an Glukose im Vergleich zur Stickstoffbindung ökonomischer wird; eine Steigerung der Humusdosis über eine bestimmte Menge übt jedoch einen nachteiligen Einfluß aus.

Wenn umgekehrt die nicht allzu große Humusmenge konstant bleibt, so wird der Stickstoffzuwachs proportional zum Glukosegehalt in der Nährlösung steigen. Doch auch hier gibt es ein gewisses Optimum, über das man nicht hinausgehen darf, ohne daß der Verbrauch an Glukose abnimmt und im Verhältnis zur Stickstoffbindung weniger ökonomisch wird.

Es scheint also ein gewisses Optimum für die Humusmenge bei einer gegebenen Menge von Glukose zu bestehen. Bei diesem Punkt geht der Prozeß der Stickstoffbindung am besten von statten.

Bei den Versuchen mit Humussäureverbindungen aus Gartenerde erhielt man dann die größten Stickstoffgewinne, wenn auf je 200 ccm Nährlösung mit 2—2,75 Proz. Gehalt an reiner Glukose 0,2—0,5 g Natriumhumat kamen. Dabei fällt bei Gegenwart von Glukose der Stickstoffzuwachs etwas besser aus, als bei Mannit oder Rohrzucker. Ist nur Humat allein vorhanden, so erhält man niedrigere Werte, als wenn nur Glukose vorgelegen hätte. Daraus folgt, daß das Humat als Kohlenstoffquelle für den Azotobacter nicht fungieren kann. Das erhellt aus dem Versuch, den wir in nachstehender Zusammenstellung folgen lassen:

Menge Glukose in der Nährlösung g	Menge Natriumhumat in der Nährlösung g	Stickstoffgewinn in 200 ccm Nährlösung mg
0	0,1	0,32
0	0,1	0,18
3,0	0,1	12,92
3,0	0,1	14,88
3,0	0	1,12
3,0	0	1,60

Die weiteren Forschungen haben uns belehrt, daß der Stickstoffzuwachs auch noch von der Form der zugesetzten Humate abhängt. Am geeignetsten erschienen die löslichen Salze der Humussäuren, die Säuren selbst oder ihre unlöslichen Salze waren weniger günstig.

Schließlich äußert sich nicht nur die Form, sondern auch der Ursprung der Humate, ja selbst die Art des Verfahrens bei ihrer Bereitung aus Erde, durch verschiedene Einwirkung auf den Azotobacter.

So wurden z. B. bei einem Versuche, wo die Erlenmeyer-Kolben mit je 200 ccm Nährlösung, zusammengesetzt aus Glukose und Natriumhumat verschiedener Herkunft, 12 Tage lang bei einer Temperatur von 28° C verblieben, folgender Stickstoffzuwachs erzielt:

Nähere Angaben über Zusammensetzung der Glukosenährlösung	Stickstoffgewinn mg	Verbrauch an Glukose g	Stickstoffgewinn pro 1 g verbrauchter Glukose mg
Ohne Humate	2,06	0,238	8,3
Mit Natriumhumat aus der Erde des Versuchsfeldes	54,27	3,070	17,7
	53,97	3,155	17,1
Mit Natriumhumat aus Gartenerde	16,09	1,917	8,4
	20,75	2,063	10,1

Obiger Versuch lehrt, daß je nach der verschiedenen Herkunft der Humate nicht nur die Gesamtmenge an gebundenem Stickstoff, sondern auch sein Verhältnis zur Menge der verbrauchten Glukose sich ändert. Bei Gegenwart von Humaten aus der Erde des Versuchsfeldes stieg die Stickstoffbindung der 12-tägigen Azotobacter-Kulturen bis zu 17 mg pro 1 g verbrauchter Glukose! Wenn man jedoch auf die Humussäuren vor ihrer Verarbeitung auf Kalium- oder Natriumhumate Salzsäure einwirken läßt, z. B. wenn man sie mit 2-proz. Salzsäure kocht, so ergibt sich eine erheblich schwächere Einwirkung der daraus erhaltenen Humate auf die Stickstoffbindung.

	Stickstoffgewinn in mg		
Art der Behandlung der zur Nährlösung angesetzten Humate	Ohne Humate	Humate aus dem Versuchsfelde	Humate aus Gartenerde
—	2,86	—	—
	2,04	—	—
Mit Salzsäure nicht gekochte Humate	—	53,18	20,86
	—	53,46	23,24
Mit Salzsäure gekochte Humate	—	16,50	9,92
	—	12,58	13,05

Der klar zutage tretende ungünstige Einfluß der Salzsäure auf die Humate in betreff ihres Wertes für die Stickstoffbindung seitens des Azotobacter erinnert bis zu einem gewissen Grade an die Versuche von Reinitzer, der bekanntlich nachgewiesen hat, daß mit Salzsäure heiß digerierte Humate ihre Fähigkeit verlieren, als Kohlenstoffquelle für die Organismen dienen zu können[1]. Dagegen aber, daß solche Humusstoffe die Kohlenstoffquelle überhaupt für den Azotobacter bilden könnten, sprechen alle unsere Versuche an Nährlösungen mit verschiedener Kombination der Konzentrationen von Humaten und Glukose; einen von diesen Versuchen haben wir oben angeführt.

Bei der Behandlung der Humusstoffe mit Salzsäure erweist es sich, daß zugleich auch die Stickstoffverbindungen in Lösung gehen. Es zeigt sich sogar, daß auf diesem Wege von den Humaten an Stickstoff im Verhältnis zum Kohlenstoff mehr abgespalten wird, als es dem gegenseitigen Verhältnis dieser beiden Elemente im Humusstoff entsprechen würde; denn als Endresultat erhält man immer ein stickstoffärmeres Produkt. Man könnte also annehmen, daß die Humusstoffe für den Azotobacter eine Stickstoffquelle bilden; man hat die Rolle der Stickstoffverbindungen mehrmals hervorgehoben, indem man z. B. behauptet hat, daß geringe Mengen an gebundenem Stickstoff auf die Entwickelung des Azotobacter einen sehr günstigen Einfluß ausüben.

In der Folge sind wir also auch an die Lösung dieser Frage herangegangen.

Beim Vergleichen der Einwirkung zweier verschiedener Humate, erhalten aus Humussäuren, die man mit Salzsäure gekocht hatte oder ungekocht gelassen hatte, auf den Azotobacter, haben wir wirklich ein gewisses Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Stickstoffzunahme in den Kulturen und der durch Hydrolyse aus den Humaten abspaltbaren Stickstoffmenge konstatieren können.

Als wir jedoch bei den folgenden Versuchen 5 Humate verschiedenartiger Herkunft anwandten, konnten wir dieses Abhängigkeitsverhältnis nicht mehr feststellen. Die Humate, die wir z. B. aus Torf erhalten hatten, gaben unter dem Einfluß der Salzsäure verhältnismäßig viel Stickstoff in die Lösung ab, und doch war ihre Einwirkung auf die Entwickelung des Azotobacter nur sehr schwach.

Hierauf suchte man die Humusstoffe in den Kulturen durch eine ganze Reihe anderer organischer und anorganischer Stickstoffverbindungen zu ersetzen, man kombinierte sie zu diesem Zwecke sogar mit künstlichen, aus Zucker erhaltenen Humusstoffen. Alle diese Versuche, die natürlichen Humusstoffe zu ersetzen, ergaben ein negatives Resultat, keine von den untersuchten 11 Stickstoffverbindungen konnte den Azotobacter zu energischerer Entwickelung anregen. Schließlich wurde noch ein Versuch ausgeführt, der zu beweisen scheint, daß der Stickstoff der Humusstoffe gar nicht vom Azotobacter verbraucht wird.

Diesen interessanten Versuch wollen wir in großen Umrissen angeben.

Es wurden Azotobacter-Reinkulturen in 6 Kolben zusammengestellt, und zwar derart, daß der Inhalt von je 250 ccm Nährlösung 2 Proz. Glukose und 0,181 g Natriumhumat aus der Erde des Versuchsfeldes mit 6,25 mg Stickstoff enthielt. Die Kulturen verblieben 12 Tage im Thermostaten bei 28° C. Am Schluß wurde mit Hilfe einer Zentri-

---

1) Botan. Ztg. 1900. p. 59.

fuge die klare Nährlösung von dem Bakterienniederschlage getrennt, und beide Teile wurden für sich weiter untersucht.

Die Trockenmasse der Bakterien wog 3,9986 g und enthielt im ganzen 8,9 Proz. Stickstoff, davon entfielen 8,6 Proz. auf Eiweißstickstoff; es waren also im ganzen 356,48 mg Stickstoff in der Bakterienmasse gefunden.

In einem Teil der Nährlösung wurde durch Salzsäure die Humussäure gefällt und ihr Stickstoffgehalt bestimmt. Nach dieser Bestimmung enthielten die Humusstoffe in der gesamten Nährlösung 31,64 mg Stickstoff. Da nun schon durch das bloße Uebergießen mit Salzsäure von ihnen sich 5,60 mg abspalten mußten, so wurden im ganzen in den Humusstoffen nach Schluß des Versuches 37,24 mg Stickstoff wiedergefunden, während ursprünglich mit den in die Nährlösung gegebenen Humusstoffen 37,50 mg eingeführt worden waren. Daraus folgt, daß dieser Stickstoff gar nicht verbraucht worden ist.

Zieht man den Stickstoff, der in die Nährlösung mit den Humaten und anderen Bestandteilen gebracht worden war, von 99,40 mg der Gesamtsumme des Stickstoffs, der in der ganzen Nährlösung gefunden worden ist, ab, so können wir an gebundenem Stickstoff einen Zuwachs in der Nährlösung selbst von 44,65 mg konstatieren. Wenn wir nun diesen Zuwachs, dessen Herkunft für sich betrachtet zu werden verdient, zu dem in der Bakterienmasse gefundenen Stickstoff addieren, so erhalten wir den Gesamtgewinn 401,13 mg Stickstoff — so viel freien Stickstoff hat der Azotobacter im Verlauf von 12 Tagen auf einer Nährlösung von 1500 ccm aus der Luft gebunden. Auf diese Bindung wurden 24,329 g Glukose verbraucht, also folgt daraus, daß bei einem Verbrauch von 1 g Glukose der Azotobacter 16,45 mg Stickstoff gebunden hat, und daß er zur Bildung von 1 g seiner Trockensubstanz 6,1 g Glukose verbraucht hat.

Dieses Resultat stimmt überein mit Ergebnissen unserer anderen Versuche, ausgeführt mit denselben Humusstoffen.

Endgültig haben wir jedenfalls noch nicht die Rolle der Humusstoffe erklärt, wir haben bis jetzt nur nachgewiesen, daß sie für den Azotobacter weder eine Kohlenstoff-, noch Stickstoffquelle darstellen. Jedenfalls aber ist uns in ihnen ein ausgezeichnetes Mittel an die Hand gegeben, daß wir nur auf die Azotobacter-Kulturen anzuwenden brauchen, um in der kurzen Zeit von 10—12 Tagen einen direkt unglaublichen Stickstoffzuwachs — 330 mg auf 1 Liter 2-proz. Glukose — zu erzielen. Und dazu erhalten wir noch diese Resultate bei Kulturen, welche auf den üblichen Nährlösungen kaum Spuren von Stickstoffbindung aufgewiesen haben!

III.

Die Azotobacter-Kulturen in humushaltigen Nährlösungen eignen sich sehr dazu, die Einflüsse, die von allerlei Faktoren auf den Azotobacter ausgeübt werden, sowie auch den Chemismus seines Stoffwechsels näher kennen zu lernen.

Zu diesem Zwecke wurden die Versuche ausgeführt, die den letzten Teil der Arbeit ausfüllen.

Vor allem ist der Einfluß der Temperatur auf den Azotobacter sehr deutlich.

Bei 9° C entwickelt sich dieser Organismus überhaupt nicht, bei Zimmertemperatur zeigt er verschiedene Resultate, die überhaupt kleiner sind, als die bei 20° C erzielten.

Am günstigsten für die Entwickelung ist 28° C, schon bei 33° C fällt der Stickstoffzuwachs rapid.

Aus den Bestimmungen der in der Nährlösung verbliebenen Glukose folgt, daß ihr Verbrauch im Verhältnis zum gebundenen Stickstoff bei den niedrigeren Temperaturen weniger ökonomisch ist (Tabelle III). In der Tabelle lassen wir den Stickstoffzuwachs bei verschiedenen Temperaturen folgen:

Tabelle III.

Temperatur	Versuchsdauer	Stickstoffgewinn mg			Stickstoffgewinn pro 1 g verbrauchter Glukose mg
9°	8½ Tage	— 0,46	— 0,52	— 0,59	—
Zimmertemperatur	8½ „	1,48	0,98	1,73	5,23
„	10 „	7,52	7,88	9,56	7,90
20°	10 „	17,34	18,24	20,06	12,90
28°	8½ „	23,74	23,74	23,85	11,60
28°	10 „	28,50	27,14	27,20	12,40
33°	8½ „	4,67	8,10	3,09	11,90

Eigentlich sollte man durch den Einfluß der variablen Zimmertemperatur einige Erfahrungen, die man öfters als Beweis für die Veränderlichkeit des Azotobacter mit der Zeit angeführt hat, erklären.

Unsere Versuche nämlich zeigen, daß die Azotobacter-Kulturen, wenn sie von Zeit zu Zeit umgeimpft werden, selbst in 1½ Jahren keinerlei Veränderung aufweisen. So ergaben die Versuche, die unter sonst gleichen Bedingungen mit Kulturen von verschiedenem Alter auf Nährlösungen mit Humaten aus Gartenerde durchgeführt wurden, nachstehenden Stickstoffzuwachs in Milligramm bei 10-tägiger Versuchsdauer:

14-tägige Kultur	144-tägige Kultur	220-tägige Kultur	350-tägige Kultur
22,41	25,62	23,74	20,20
23,60	22,73	23,85	21,12

und bei Humaten aus der Erde des Versuchsfeldes:

350-tägige Kultur	519-tägige Kultur
55,84	54,36
54,16	55,20
54,27	54,92

Dagegen ergeben Kulturen verschiedener Herkunft verschiedene Resultate. Wir lassen hier die Versuche folgen, die wir mit dem von Prof. Beijerinck erhaltenen Original-Azotobacter und mit den von uns aus gekalkter und ungekalkter Parzelle des Versuchsfeldes in Krakau erhaltenen Azotobactern ausgeführt haben.

Azotobacter von Beijerinck Originalkultur	Azotobacter aus gekalkter Parzelle	Azotobacter aus ungekalkter Parzelle
9,36	20,20	14,82
10,55	21,12	13,42

Der letzte Versuch ist um so interessanter, als er die Beobachtungen anderer Autoren über das Bestehen verschiedener Azotobacter-Rassen bestätigt. Er würde sogar hinweisen auf die Möglichkeit einer Entwickelung von Azotobacter-Rassen während einer Zeitdauer von 15 Jahren; denn die Kalkung einiger Parzellen, wobei etliche ungekalkt blieben, wurde vor 15 Jahren vorgenommen. Schließlich könnte man durch das Vorhandensein verschiedener Azotobacter-Rassen die verschiedenen Ansichten mancher Autoren über das Stickstoffbindungsvermögen des Azotobacter erklären, natürlich soweit es sich um vollkommen reine Kulturen handelt. Uebrigens ist die Fähigkeit zur Stickstoffbindung bis jetzt erst bei Azotobacter und Granulobacter entschieden festgestellt. Kombinationen von Radiobacter mit diesen Bakterien in Nährlösungen mit und ohne Humate ergaben folgenden Stickstoffzuwachs in Milligramm bei 10-tägiger Versuchsdauer:

	Impfmaterial	Stickstoffgewinn in Nährlösung mit Humaten mg		Stickstoffgewinn in Nährlösung ohne Humate mg	
1.	Azotobacter	10,79	10,49	0,74	0,74
2.	Radiobacter (von Prof. Beijerinck)	0,06	0,08	0,18	0,04
3.	Granulobacter	4,70	4,63	1,93	1,51
4.	Azotobacter + Radiobacter	9,39	10,02	0,53	0,60
5.	Azotobacter + Granulobacter	13,24	12,19	1,51	1,58
6.	Azotobacter + Radiobacter + Granulobacter	12,26	12,54	1,44	1,79

Wir sehen also in Uebereinstimmung mit den in geschlossenen Apparaten ausgeführten Versuchen, daß nur der Azotobacter und Granulobacter freien Stickstoff zu binden vermögen. Stickstoffbindung in einer Nährlösung ohne Humusstoffe zeigt Granulobacter erheblich deutlicher als Azotobacter, wenn auch auf den ersteren die Gegenwart der Humate günstig einwirkt. Radiobacter bindet dagegen weder im ersten, noch im zweiten Falle selbst Stickstoff, noch steigert seine Anwesenheit den Stickstoffgewinn in den Kulturen der anderen Bakterien.

Zum Schluß noch einige Worte über die Umsetzung der Kohlehydrate seitens des Azotobacter.

Angesichts der schlechten Uebereinstimmung auch in diesem Punkte zwischen den Versuchsergebnissen von Stoklasa und den unserigen, wollten wir unsere Schlüsse nochmals durchprüfen. Zu diesem Zwecke stellten wir die Kulturen in offenen Kolben mit günstigst wirkenden Humaten in Nährlösung zusammen und unterwarfen der Untersuchung je 1 Liter Nährlösung, in welcher der Azotobacter gegen 270 mg Stickstoff band, haben jedoch darin weder Alkohol noch organische Säuren in bestimmbaren Mengen konstatieren können.

Angesichts dieses Resultats müssen wir also eine von den beiden Alternativen annehmen: Entweder hat sich Herr Prof. Stoklasa geirrt, wenn er zu wiederholten Malen versicherte, seine Azotobacter-Kulturen wären Reinkulturen gewesen, während sie in Wirklichkeit mindestens mit Granulobacter verunreinigt waren; oder der von ihm isolierte und untersuchte Azotobacter ist in morphologischer Hinsicht mit dem unserigen fast in allen Punkten identisch, in physiologischer Hinsicht dagegen unterscheidet er sich gänzlich von ihm.

Wir wollen nicht die Entscheidung darüber fällen, welche von diesen beiden Möglichkeiten der Wirklichkeit entspricht, wenn auch die erste uns als die wahrscheinlichere erscheinen will.

Die Kulturen unseres Azotobacter werden im Institut für landwirtschaftliche Chemie der Jagellonischen Universität zu Krakau aufbewahrt; von dort kann man sie zwecks weiterer Vergleichung mit anderweitig isolierten Formen erhalten. Dem Direktor dieses Instituts, Herrn Prof. Dr. E. Godlewski sen., sei es mir vergönnt, auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank für sein wohlwollendes Interesse, mit dem er den ganzen Verlauf der Arbeit verfolgt hat, auszusprechen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Nachdruck verboten.

Ueber im Jahre 1908 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten und Mitteilungen auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten.

Von **A. Stift**, Wien.

A. Zuckerrübe.

Die Saatkrähe als Schädiger der Zuckerrübe hat Fleischmann [1]) beobachtet, und zwar dann, wenn diese Vögel an Nahrungsmangel leiden. Das befallene, mit schwefelsaurem Ammoniak gedüngte Feld zeigte eine auffallende Lückenhaftigkeit des Bestandes, während eine daneben liegende, mit Chilesalpeter gedüngte Parzelle verschont blieb. Als Grund dieser auffallenden Erscheinung wurde die Vermutung ausgesprochen, daß die Rüben der Ammoniakparzelle vielleicht einen höheren Zuckergehalt besessen hätten.

Die ungeheueren, jährlich viele Millionen Francs betragenden Schäden, die die Engerlinge in Frankreich, speziell im stark rübenbautreibenden Kreise Meaux, anrichten, haben nach der Mitteilung von Bénard [2]) ein systematisches Einfangen der Maikäfer veranlaßt, das auch zu dem erwünschten Ziele führen wird, da auf 126000 ha in 7 Jahren 4707 Meterzentner Maikäfer eingesammelt worden sind, davon im ersten Jahre 1432 Meterzentner, im letzten aber nur mehr 78 Meterzentner. Die jährlichen Kosten betrugen auf 1 ha nur 5 Centimes. Aehnliche Maßregeln hat man auch in Böhmen ergriffen und hat hier die k. k Statthalterei [3]) eine Kundmachung erlassen, nach welcher per Liter eingesammelter Maikäfer 6 Heller und per Liter eingesammelter Engerlinge 12 Heller gezahlt werden.

Infolge der ungeheueren Schäden, welche die Rüsselkäfer alljährlich in Ungarn anrichten, wurde auf Ansuchen des Landesvereins ungarischer Industrieller [4]) durch einen Erlaß des Ackerbauministeriums die Vertilgung der genannten Schädlinge für obligatorisch erklärt. Besonders hat sich die Gewährung von Prämien, die der obige Verein gibt, für nützlich erwiesen, ferner auch das Bespritzen der Rüben mit Chlorbarium, namentlich dort, wo eine eigens konstruierte Bespritzungsmaschine zur Verwendung gekommen ist. Auf diese Weise hofft man, dem Auftreten der Rüsselkäfer Herr zu werden, namentlich dann, wenn

---

1) Deutsche landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 670.

2) Journal des fabricants de sucre. XLIX. 1908. No. 17.

3) Prager Zuckermarkt. XXVII. 1908. No. 67.

4) Wochenschr. des Zentralvereines f. Zuckerrübenindustrie in der österr.-ungar. Monarchie. Jahrg. XLVI. 1908. p. 392 u. 423.

es gelingt, die Indolenz der kleinen Landwirte zu beseitigen. Anleitungen zur Bekämpfung der Rüsselkäfer nebst Beschreibung derselben geben auch Wahl und Philp[1]), die im allgemeinen bekannt sind. Ferner geben die beiden genannten Autoren Rezepte zur Herstellung von Arsengemischen (amerikanischen und französischen Ursprungs) an, welche zum Vergiften der Blätter dienen und sich in der Praxis bewährt haben sollen, aber für die Bedürfnisse der großen Paxis den Nachteil besitzen, daß deren Herstellung eine viel zu komplizierte und mühsame ist.

Wassiliew[2]) empfiehlt zum Fangen von Schädlingen in Fanggruben nicht nur prismatische, sondern auch zylindrische, ungefähr 25 cm breite und 38 cm lange Anlagen, weil diese viel dauerhafter sind. Die gefangenen Insekten werden bald durch die eigenen Feinde derselben, wie Laufkäfer, Spinnen etc., vernichtet. Das Sammeln der Schädlinge auf den Feldern und die gleichzeitige Bespritzung der Saat sofort nach dem Verziehen mit einer 5-proz. Chlorbariumlösung erwies sich ebenfalls als ein gutes Mittel zur Bekämpfung, besonders wenn alle diese Mittel jedes Jahr ohne Rücksicht auf die Menge der auftretenden Schädlinge zur Anwendung gelangen.

Lonay[3]) berichtet über Ammoniumsulfat als Schutzmittel gegen Insektenfraß. Von 6 ha gleichen Bodens, die unter gleichen Bedingungen, mit gleichen Samen und am gleichen Tag bestellt worden waren, wurden die drei mit 63,1 kg Ammoniakstickstoff per Hektar gedüngten Hektare von Insektenlarven nicht heimgesucht, während auf den übrigen, mit der entsprechenden Menge Natriumsalpeterstickstoffes gedüngten Hektare viele Rüben zerstört wurden.

In Granada ist nach Choin[4]) in geradezu unabsehbaren Mengen ein Schildkäfer (Cassida nobilis) aufgetreten, der den Rübenbau zu vernichten droht, was um so bedenklicher ist, als bis jetzt noch keine wirksamen Bekämpfungsmittel aufgefunden werden konnten.

Das zur Bekämpfung der Maden der Runkelfliege (Anthomyia conformis) vielfach empfohlene Liegenlassen der befallenen ausgezogenen Rübenpflänzchen am Felde hält Schwartz[5]) für unpraktisch, da dadurch die Maden nicht abgetötet werden, sondern bis zum völligen Vertrocknen der Blätter noch genügend Nahrung finden und schießlich eine Notpuppe bilden. Ebenso hat auch das Unterhacken der Blätter keinen Erfolg, da sich die Tiere unter normalen Verhältnissen in der Erde zu verpuppen pflegen und sich die Fliegen, namentlich bei trockener Witterung, ziemlich gut durch die sie bedeckende Erde hindurchzuarbeiten vermögen. Aehnlicher Ansicht ist auch Boeker[6]), der empfiehlt, die Fliege und nicht die Made zu bekämpfen. Zu diesem Zwecke stellte er in geeigneter Weise auf einer Seite mit Leim bestrichene steife Streifen (Format 15×12 cm) von Zeichenpapier in die Rübenreihen und fing in 3 Tagen mittels 20 solcher Streifen 630 Fliegen. Die Kosten beliefen sich insgesamt auf 2,05 M per Hektar. Außerdem ist auch der Boden zwecks direkter oder indirekter Zerstörung der Puppen gründlich und häufig zu hacken. Nach Uzel[7]) scheint Anthomyia conformis identisch mit Pegomyia

---

1) Wiener landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 3. 2 Abbildungen.
2) Centralbl. f. d. Zuckerindnstrie. Jahrg. XVI. 1908. p. 897.
3) Die Deutsche Zuckerindustrie. Jahrg. XXXIII. 1908. p. 472.
4) La Sucrerie indigène et coloniale. T. LXXI. 1908. p. 228.
5) Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 656.
6) Ebenda 388.
7) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXXII. 1908. p. 578.

nigritarsis zu sein. Als natürlichen Feind fand er in den Larven und Puppen der Runkelfliege die Schlupfwespe Opius nitidulator Neer. Ferner hat Uzel[1]) in Samenknäueln sehr viele Larven der Fliege Homalomyia canicularis L. und Scatopse pulicaria Lw. gefunden.

Nach Wassiliew und Miram-Smela[2]) gehören zu den ständigen Besuchern der Rübenfelder verschiedene Wanzen, die durch Aussaugen der Stengel, Blätter, Knospen und Blüten die befallenen Teile zum Eintrocknen bringen können. Dürre begünstigt das Auftreten der Wanzen. Feuchte Frühlinge und Sommer begünstigen wieder das Eindringen und die Entwickelung parasitischer Pilze in die durch die Wanzen hervorgerufenen Beschädigungen der Pflanzen, so daß also die Wanzen zu den wichtigsten Zuckerrübenschädlingen zu zählen sind. Die genannten Verfasser beobachteten in Rußland folgende 19 Arten als Rübenschädlinge: Lygus campestris L., L. pratensis L., L. pratensis varietas campestris Fall., Lopus gothicus L., Adelphocoris lineolatus Goeze, Orthotylus flavosparsus Sahlb., Poecilosscytus cognatus Fieb., P. vulneratus Wolff, Campilomma verbasei H. S., Lygaens equestris L., Therapha hyoscymni L., Piesma capitata Wolff, Eurydema oleraceum L., Carpocoris fuscispincy Boh., Pentatoma baccarum L., P. juniperum L., P. prasinum L., Pyrrhocoris apterus L. und Eurygaster maurus L.

Uzel[3]) berichtet über ein ganz ungewöhnlich starkes Auftreten der Milbenspinne (Tetranychus telarius), welche auf vielen Feldern die Blätter vollkommen vernichtet hatte, wodurch das Wachstum der Zuckerrübe schädlich beeinflußt wurde. Infolge der verborgenen Lebensweise dieses Schädlings auf der Unterseite der Blätter führt ein Bespritzen der Blätter mit tötenden Flüssigkeiten nur schwer zum Ziele, so daß vielfach nichts anders übrig bleibt, als die befallenen Blätter schleunigst vom Felde zu entfernen. Ueber ein ebenfalls ganz bedeutendes Auftreten der Milbenspinne macht Fallada[4]) Mitteilung, und wogen manche befallene Rübenpflanzen zur Zeit der Rübenernte nur 3—19 g. Charakteristisch war, daß bei sämtlichen Exemplaren die Blätter des ersten und zweiten, bei mehreren sogar auch diejenigen des dritten Blattkreises fehlten und die übrig gebliebenen, mit Ausnahme der Herzblätter, verdorrt waren.

Die Rübennematode (Heterodera Schachtii) ist nach den Beobachtungen von Uzel[5]) in Böhmen der weitaus gefährlichste Rübenschädling, der daher eine energische Bekämpfung erheischt. Die von Uzel weiter angegebenen Schutzmaßregeln und Bekämpfungsmaßregeln bringen nichts Neues und Wesentliches. Krüger[6]) weist auf die Tatsache hin, daß die Nematoden den Rüben alle Nährstoffe in beträchtlicher, nahezu gleicher Weise entziehen und dadurch Gewicht und Qualität der Rübe nach Umständen in ganz verschiedener Weise beeinflussen. Von Nematoden befallene Rüben werden, falls ihnen nicht genügende Nährstoffmengen zur

---

1) Ebenda 580.

2) Centralbl. f. d. Zuckerindustrie. Jahrg. XVI. 1908. p. 704.

3) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXXII. 1908. p. 576.

4) Oesterreichisch-Ungarische Zeitschr. f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXVII. 1908. p. 49.

5) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXXII. 1908. p. 262.

6) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. LVIII. 1908. p. 748.

Verfügung stehen, an Nährstoffmangel leiden. Vorhandener Nährstoffmangel wird in diesem Falle vergrößert und damit auch alle Folgeerscheinungen des Mangels in ausgeprägter Form, während eine verstärkte Nährstoffgabe, die so groß sein muß, daß die den Rüben entzogene Menge ersetzt wird, den Nematodenschaden ganz oder fast beseitigt. Es sind daher die Nematoden für die Nährstoffaufnahme und für die Aufnahme des Kalis von Bedeutung. Auf Grund dieser Beobachtungen wird sich vielleicht ein Weg zur Bekämpfung der Nematoden finden lassen und sind entsprechende Versuche in Angriff genommen worden. Vibrans[1]) erklärt es nicht für ausgeschlossen, daß bei intensivem Rübenbau, welcher die Nematodenplage vielfach nach sich zieht, zugleich ein Kalkmangel im Boden zu Mindererträgen Anlaß gibt. Durch Verwendung von Kainit in wechselnd großen Mengen und Kalk soll eine Verminderuug des Nematodenschadens herbeigeführt worden sein. Naehrich[2]) hat zur Bekämpfung der Nematoden den Rübenbau auf verseuchten Feldern auf 6 Jahre eingestellt und hiernach wieder normale Ernten erhalten.

Betreffs der sogenannten „Bodenmüdigkeit“) haben Pouget und Chonchak[3]) nachgewiesen, daß diese Erscheinung nicht nur auf Bodenerschöpfung beruht, sondern vielmehr darauf, daß die Pflanzen giftige Stoffe ausscheiden, die sich im Boden anhäufen und schließlich entwickelungshemmend wirken.

Mit dem Vorkommen von Wurzelbranderregern auf der Rübensaat haben sich in eingehender Weise Busse und Ulrich[4]) beschäftigt und wollten die Genannten darüber Klarheit schaffen, ob und in welchem Umfange die Infektion der jungen Rübenpflänzchen von der Rübensaat selbst, d. h. von den ihr anhaftenden Parasiten ausgehen kann, und wie weit die im Boden vorhandenen Organismen dafür verantwortlich zu machen sind. Als Wurzelbranderreger wurden bis auf eine ganz geringfügige Anzahl unaufgeklärter Fälle ausnahmslos Phoma Betae Frank, Pythium de Baryanum Hesse und Aphanomyces laevis de Bary entweder allein oder in Mischinfektion nachgewiesen und dürfen füglich diese drei Pilze als die Erreger des Wurzelbrandes in Deutschland angesehen werden. Schädigungen tierischer Herkunft stehen mit den echten Wurzelbrandkrankheiten nicht im ursächlichen Zusammenhange. Eingehende Untersuchungen berechtigen nun zu der Annahme, daß weder Pythium de Baryanum noch Aphanomyces leavis auf der Rübensaat vorkommen, so daß also die durch diese beiden Pilze hervorgerufenen Wurzelbrandfälle der Rübensaat nicht zu Lasten geschrieben werden dürfen. Man darf daher nicht erwarten, die Wurzelbrandkrankheit durch Vernichtung der den Knäueln aufsitzenden Parasiten, etwa auf dem Wege der Desinfektion der Saat radikal zu beseitigen, da man dadurch nur Phoma Betae allein treffen würde. Alle die vorgeschlagenen verschiedenen Desinfektionsverfahren der Rübensaat sind dadurch auf ihren wahren Wert zurückgeführt, ebenso auch das von Linhart ersonnene Verfahren, die Rübenknäuel durch Schälen von der Perigonhülle zu befreien, um dadurch für eine möglichste Beseitigung der den Knäuel anhaftenden Parasiten zu sorgen; sie treten in den Fällen außer Kraft, in denen auf dem Felde andere Wurzelbranderreger als

---

1) Blätter f. Zückerrübenbau. Jahrg. XV. 1908. p. 307.

2) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. LVIII. 1908. p. 750.

3) Die Deutsche Zuckerindustrie. Jahrg. XXXIII. 1908. p. 521.

4) Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. p. 373.

Phoma Betae die Vorherrschaft erlangen. Linhart hat sich nun seiner Zeit dahin ausgesprochen, bei der Samenkontrolle die Anzahl der kranken Keimlinge als Maßstab für die Güte einer Rübensaat heranzuziehen, eine Forderung, die aber vielfachen Widerspruch gefunden hat, hauptsächlich in der Richtung hin, daß auch die Art der Krankheit bei der Prüfung auf kranke Keimlinge eine hervorragende Rolle spielt. Daß dieser Einwand ein durchaus berechtigter ist, haben die Untersuchungen von Busse und Ulrich gezeigt, die lehren, daß alle durch Pythium und Aphanomyces hervorgerufenen Wurzelbrandfälle mit Sicherheit nicht ihren Ausgang von der Rübensaat nehmen. Es erscheint daher kaum zulässig, für die Beurteilung der Güte einer Rübensaat die Anzahl der im Keimbette gefundenen kranken Keimlinge heranzuziehen, da eine solche einseitige Maßnahme zu ungerechtfertigten Belästigungen des Rübensamenhandels führen würde. Allerdings sind die von den Rübenknäueln ausgehenden Infektionen nicht zu unterschätzen, da Phoma Betae zweifellos als Wurzelbranderreger bei den Erkrankungen im Felde eine große Rolle spielt. Wie die Sachlage aber jetzt steht, ist man noch nicht berechtigt, von den Züchtern eine Phoma-freie Saat zu verlangen, da über die Biologie dieses Pilzes nur Bruchstücke bekannt sind. Es bedarf daher noch vieler Studien, um diese Lücken auszufüllen und um dann zu brauchbaren Gegenmitteln zu gelangen.

Gegenüber den vorstehenden und in früheren Jahren erschienenen Mitteilungen präzisiert Linhart[1]) seinen Standpunkt dahin, daß er auch jetzt noch dafür ist, bei der Wertbestimmung des Rübensamens dessen Gesundheitszustand in Rechnung zu ziehen, und zwar unter Trennung der „leicht-“ und „schwerkranken“ Keime. Letztere sind unter allen Umständen wertlos, erstere können wohl in einem guten Rübenboden unter günstigen Vegetationsbedingungen normale Pflanzen liefern, nicht aber in weniger guten Böden unter mehr oder weniger ungünstigen Vegetationsbedingungen. Tatsache ist ferner, daß kranker, d. h. von Mikroorganismen infizierter Samen bei guter Durchführung des Schäl- oder Beizverfahrens nicht nur im Keimbett, sondern auch im freien Land angebaut, fast immer günstigere Resultate liefert, nicht nur hinsichtlich des Gesundheitszustandes, sondern auch wegen der größeren Keimungsenergie, als ein kranker unbehandelter Samen. Der Einwand, daß ja auch im Boden die Krankheitserreger vorhanden sein können, somit die Ausscheidung des kranken Rübensamens oder die geringere Preisbewertung desselben keinen Zwecke habe, ist insofern nicht richtig, weil man ja bei der Verwendung eines gesunden oder mindestens möglichst gesunden Rübensamens eine Quelle der Ansteckungsgefahr beseitigt oder mindestens mehr oder weniger herabsetzt, was auch für das Schälen, bezw. Schälen und Beizen gilt.

Hiltner und Peters haben vor einigen Jahren die Ansicht ausgesprochen, daß die von Linhart als parasitisch erkannten Mikroorganismen (Phoma Betae Frank, Bacillus mycoides Flügge) vielleicht nur harmlose Saprophyten sind, die für die Rübenkeimlinge nur dann gefährlich werden, wenn die Wurzeln durch den Einfluß bestimmter Stoffe, namentlich von Oxalaten, in ihrer Widerstandsfähigkeit geschwächt werden. Doby[2]) hat nun diese Voraussetzung näher geprüft und gefunden, daß zwischen der Menge der Oxalsäure, bezw. der Oxalate und dem durch Keimungsversuche ermittelten Gesundheitszustande der Rübenknäuel kein Zusammenhang besteht. Es bieten daher die Keimungsversuche von Hiltner und Peters, bei denen sie die Rübenknäuele in mit Oxalsäure und Oxalaten inprägniertem Sande keimen ließen, nur theoretisch verwertbare Beiträge zu den toxischen Wirkungen der Oxalsäure und ihrer Salze, ohne jedoch in irgend einer Hinsicht auf den Gesundheitszustand der Rübenknäuel anwendbar zu sein.

---

[1]) Monatshefte für Landwirtschaft. Jahrg. I. 1908. p. 356.

[2]) Oesterreichisch-ungarische Zeitschr. f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXVII. 1908. p. 596.

Busse[1]) bezeichnet den Wurzelbrand als die gefährlichste der in Deutschland auftretenden Rübenkrankheiten. Der Wurzelbrand ist nicht als eine einheitliche Krankheit zu betrachten, wenn auch die hierher gehörigen Erscheinungen einander oftmals außerordentlich ähnlich sind. Für die Bekämpfung der Krankheit hat man mit Rücksicht auf die Umstände der Begünstigung ihres Auftretens mehr auf Vorbeugungsmaßregeln als auf direkt wirkende Bekämpfungsmaßregeln das Augenmerk zu richten. Als allgemeine Vorbeugungsmaßregeln empfehlen sich: Drainage bei hochgradiger Bodenfeuchtigkeit, frühzeitiges Pflügen und Abernten der Vorfrucht, rechtzeitiges Einbringen des Stallmistes, genügende Zufuhr von stickstoff- und phosphorsäurehaltigem Kunstdünger vor und bei der Einsaat, Verwendung guter Saat von hoher Keimkraft, fleißiges Hacken während der ersten Entwickelungsperiode, eventuell auch Kopfdüngung mit Chilesalpeter, Vermeidung gehäuften Rübenbaues, in gewissen Abschnitten zu wiederholende Kalkung des Bodens (Aetzkalk für mittelschwere und schwere Böden, kohlensaurer Kalk für leichte Böden und Scheideschlamm zur Vorfrucht), richtiger Zeitpunkt und Tiefe der Einsaat, Vorzug der Drillsaat vor dem Dibbelverfahren. Als direkte Bekämpfungsmittel hat man eine Desinfektion der Saat mit pilztötenden Mitteln (z. B. Karbolsäure) oder Beizung mit heißem Wasser empfohlen, doch haben alle diese Verfahren wegen Schwierigkeiten in der Durchführung und anderer Hindernisse wegen keine allgemeine Anwendung in der Praxis gefunden.

Richter[2]) hat den Wurzelbrand folgendermaßen mit Erfolg bekämpft: 1) Beizung des Samens einige Tage vor der Aussaat 48 Stunden in 4-proz. Kupfervitriollösung; 2) Aussaat nicht vor dem 20. April; 3) frühzeitiges Hacken und Walzen der Saat; 4) Aufsparung eines Fünftels der den Rüben zugedachten Superphosphatmenge und Streuen dieser Menge 14 Tage nach der Bestellung in die Drillreihen.

Störmer[3]) bespricht in einem Vortrage die neueren Ergebnisse in der Erforschung der Krankheiten der Zuckerrübe, in erster Linie die Pathologie des Rübensamens, und zwar vom Standpunkt des Bakteriologen, dessen Aufgabe es ist, die Art und Bedeutung der vorkommenden Mikroorganismen zu ermitteln und etwaige Beziehungen zur Gesundheit der Saat festzustellen. Wenn auch vielfach die Phoma-Furcht zu weitgehend ist, so erscheint es aber auch nicht angebracht, den an den Samen anhaftenden pathogenen Keimen gar keine Bedeutung beizumessen. Nach wie vor ist zu empfehlen, ein möglichst einwandfreies Saatgut von hervorragender Keimkraft zu benutzen. Den Züchtern obliegt es aber, sich durch ihre Bestrebungen nicht nur den höchsten Zuckergehalt zu sichern, sondern auch an die Züchtung einer Rübe

---

1) Kaiserlich Biologische Anstalt für Land- u. Forstwirtschaft. Flugblatt No. 44. Mai 1908. 1 farbige Tafel.

2) Illustr. Landwirtschaftl. Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 128.

3) Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Jahrg. XLIII. 1908. p. 718.

heranzutreten, die mit höchstem Zuckergehalt eine besondere Widerstandsfähigkeit gegen parasitäre Krankheiten entwickelt. Bezüglich des Wurzelbrandes ist Störmer ebenfalls der Ansicht, daß hier parasitäre Ursachen vorliegen, selbstverständlich aber, daß dabei auch noch eine Disposition zur Krankheit notwendig ist. Die Ursache kann im Samen, im Boden und in der Witterung liegen, so daß also mit einer Maßnahme — etwa nur Beizung des Samens — in der Bekämpfung nichts getan ist.

Mehrle[1]) hat die Beobachtung gemacht, daß in einer Waldrodung trotz aller Bekämpfungsmaßregeln seit Jahren die Herzfäule bis auf jene Stellen auftrat, wo seinerzeit Kohlenmeiler standen. Hier war der Boden etwas weniger bindig geworden, seine Wasseraufsaugungskraft wurde erhöht und es wurden seine üblen Eigenschaften derart verändert, daß er gesunde Rüben liefern konnte. Zur Bekämpfung der Krankheit, die sich langwierig gestaltet, empfiehlt Mehrle: 1) Tiefe Bodenbearbeitung im Herbst und 2) Anwendung von Holzasche in Gaben von 2 kbm per Hektar bei der Frühjahrsbestellung, eventuell späte Aussaat in kalten Böden und große Standweite, um die Wurzeln fähig zu machen, dem Einfluß der Trockenheit zu entgehen. — Nach Genty[2]) ist die Herzfäule in den letzten Jahren in Frankreich ziemlich verbreitet aufgetreten, und glaubt er dieser Krankheit durch Tiefkultur des Bodens und durch intensive Düngung mit kalihaltigen Salzen vorbeugen zu können. — Kleberger[3]) stellt nach seinen Beobachtungen fest, daß die Herz- und Trockenfäule im wesentlichen durch Phoma Betae Frank hervorgerufen wird. Witterungsextreme, hauptsächlich plötzliche Trockenheit nach vorausgegangener ausgedehnter Feuchtigkeit, wirken fördernd für die Krankheit, dagegen haben stärkere Gaben von Stickstoff keinen direkt fördernden Einfluß auf die Krankheit ausgeübt, ja Rüben in starker Stallmistdüngung zeigten sich eher geneigt, durch Neubildungen die Folgen der Krankheit zu überwinden. Direkt hervorgerufen wird aber die Krankheit durch Stallmist, in dem sich Reste verfaulter Rüben befinden, da diese Rückstände in der Regel Phoma Betae enthalten. Aetzkalk und Kainit, in großen Gaben dem Stallmist beigemischt, scheinen unter Umständen die Infektionskraft ganz aufzuheben. Stickstoffdüngung in Form von Kunstdünger nimmt bei rechtzeitiger Anwendung keinen ungünstigen Einfluß auf die Krankheit, dagegen scheint aber Chilesalpeter bei stärker erkrankten Pflanzen auf den Verlauf der Krankheit beschleunigend wirken zu können. Die Uebertragung der Krankheit durch Samen aus erkrankten Beständen ließ sich experimentell nicht nachweisen. Zur Bekämpfung der Krankheit empfiehlt Kleberger folgende Maßregeln: 1) Auswahl solcher Felder, die nicht besonders leicht austrocknen; 2) Bearbeitung aller lockeren und leichteren Böden im Herbst oder im frühen Frühjahr, um die vorhandene Feuchtigkeit zu konservieren; 3) stärkere Stallmistgaben, mit entsprechender Vorsicht (s. oben), sowie Düngung mit größeren Mengen von stickstoffhaltigen Düngemitteln, wobei letztere Düngung so früh als möglich zu erfolgen hat; 4) erkrankte Pflanzen sind möglichst rasch zu entfernen und zu verfüttern. Schonsky[4]) ist der Ansicht, daß die Hauptursache der Herz- und Trockenfäule Klee als Vorfrucht sei, denn

---

1) La Sucrerie indigène et coloniale. T. LXXI. 1908. p. 91.
2) Ebenda, p. 363.
3) Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XVIII. 1908. p. 48.
4) Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 794.

Kleeschläge kommen trocken in den Winter und bringen, wenn nicht besonders niederschlagsreiche Winter folgen, in trockenen Jahren die relativ geringsten Rübenernten. Ebenso scheinen auch größere Gaben von Scheideschlamm (über 100 Meterzentner pro Hektar) fördernd zu wirken. Auf Schlägen, die zur Trockenheit neigen, empfehlen sich Roggen und Weizen als Vorfrucht, ferner animalische Düngung oder Gründüngung, am besten beiderlei Düngungen. Weiter sind zur Erhaltung der Bodenfeuchtigkeit zu beachten: Möglichst zeitiger Anbau, häufige Lockerung des Bodens bis zum Blattschluß, kein Gebrauch der Walze, Anwendung der Chilesalpeterkopfdüngung, Reihenentfernung der Rüben nicht über 35 cm, speziell bei bindigen Böden.

Im Jahre 1906 erschien eine Arbeit von Brzezinski, welche die Beschreibung eines neuen Parasiten zum Gegenstand hatte, der nicht nur den Wurzelbrand und die Trockenfäule erregen, sondern überhaupt an der Entstehung aller anderen Rübenkrankheiten lebhaften Anteil nehmen sollte. Ja, es sollte sogar eine Reihe von pathologischen Erscheinungen der Zuckerrübe, welche bis jetzt verschiedenen Pilzen, Bakterien und sogar Tieren (Nematoden) zugeschrieben werden, auf die Ansteckung einzig und allein dieses Parasiten zurückgeführt werden. Brzezinski nannte diesen Pilz, dessen „Entwickelungsgeschichte“ er eingehend beschrieben hat, Myxomonas Betae. Trzebinski[1]) hat nun die Arbeit von Brzezinski näher geprüft und weist nach, daß dieser Forscher hauptsächlich die Zersetzungsprodukte des Zellplasmas der Zuckerrübe als besagten Pilz angesehen und beschrieben hat. Die gesamten eingehenden Studien Trzebinskis haben zu dem Resultat geführt, daß man alle Stadien von Myxomonas künstlich ohne jede Mitwirkung von anderweitigen Mikroorganismen hervorbringen kann, woraus folgt, daß Myxomonas als selbständiger Organismus nicht existiert. Der Wert der Arbeit Brzezinskis liegt also nur darin, daß sie eine „außerordentlich sorgfältige und vollständige Darstellung von den Absterbungserscheinungen der Zellelemente bei der Zuckerrübe gibt“. v. Faber[2]) verurteilt ebenso den Befund Brzezinskis, der nur auf Grund grober Verwechslungen und ungenügender Kenntnis mikroskopischer Technik zustande gekommen ist. Die Zoosporen, Myxamöben, Plasmodien, Sporen, Cysten und Sporangien, die Brzezinski als zu seinem Schleimpilz gehörig sicher nachgewiesen haben will, erweisen sich als Zersetzungsprodukte der Zelle, Oeltröpfchen, Bakterien oder Teile anderer Pilze.

Vaňha[3]) hat verschiedene Sorten von Runkelrübensamen, die nach dem Verfahren von Mautner (Einwirkung von Chlor und schwefeliger Säure) imprägniert waren, im Keimbett (sterilisierter Sand) und auf freiem Felde beobachtet. Im ersteren Falle konnte kein bestimmter Einfluß in bezug auf Keimkraft und Gesundheitszustand der Samen festgestellt werden, und auch nach dem tatsächlichen Bestande auf dem Felde ließ sich bezüglich des Wurzelbrandes keine bestimmte günstige Wirkung dieses Verfahrens nachweisen. Die durch den Pilz Cercospora verursachte Blattfleckenkrankheit hängt in keiner Weise vom Samen und der Imprägnierung desselben ab, sondern wird durch Wind

---

1) Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVII. 1908. p. 321.

2) Arb. a. d. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. p. 352.

3) Zeitschr. für das landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. XI. 1908. p. 888.

und Insekten verbreitet, ebenso die Herzfäule. Der Rübenrost (Uromyces betae) wird in ähnlicher Weise wie Cercospora übertragen, doch war trotzdem diese Krankheit bei dem imprägnierten Samen bedeutend geringer. Auffallend ist auch der Einfluß des Imprägnierens auf die Trockenfäule, die dadurch sehr eingeschränkt wurde. Bei zwei Runkelrübensorten (roter Mammut und rote Eckendorfer) bewirkte die Imprägnierung eine Steigerung des Ertrags, bei Mautner olivenförmige dagegen eine Erniedrigung. Bei Oberndorfer war kein derartiger Einfluß zu beobachten, wie ferner auch bei sämtlichen vier Sorten ein Einfluß auf die Qualität der Rüben nicht zu beobachten war.

Nach Brizi[1]) wurden Zuckerrübenkulturen bei Cremona durch das Auftreten der Sklerotienkrankheit empfindlich geschädigt. Am Grund der Wurzel zeigten sich im August schwärzliche Flecke, die sich immer weiter auf der einen Seite ausbreiteten. Das Rindenparenchym war nach jeder Seite von Hyphenzweigen durchzogen, welche die Zellwände durchbohrten und im Inneren der Zellen Knäuel bildeten. Die Wände färbten sich braun, während infolge des desorganisierten Inhaltes der Turgor der Zellen aufhörte und die Gewebeteile einschrumpften. Später sind die Wurzeln in Gänze von einem flockigen, glänzenden, silberweißen Mycelgeflecht umhüllt, auf welchem früher oder später kugelige Sklerotien von verschiedener Farbe erscheinen. Die Kultur dieser Sklerotien führte im Dunklen zur Entwickelung von typischen Fruchtkörpern, welche denjenigen von Thyphula variabilis Rieß. vollkommen entsprechen. Die von diesen in großer Menge abgeworfenen Basidiosporen keimten in einem Aufguß von Rüben mit 15-proz. Gelatine und Zusatz von wenig Agar sehr leicht und in kurzer Zeit. Aus ihnen gingen Mycelien hervor, welche dem typischen, sklerotienbildenden Mycelium auf Zuckerrüben vollkommen entsprechen. Eine Uebertragung der Krankheit mittels der aus den gekeimten Basidiosporen erhaltenen Mycelien auf gesunde Pflanzen gelang nicht, wohl wurde aber dieselbe durch Auflegen von Mycelien vollzogen, welche bereits eine saprophytische Entwickelung auf gekochten Rüben durchgemacht hatten. Aus der Berührung von kranken Rüben mit gesunden gehen letztere mit der Krankheit behaftet hervor.

Ueber die Entstehung der Gabel- und Vielbeinigkeit der Zuckerrüben, hervorgerufen durch das Versetzen der Pflanzen, berichtet Zimmermann[2]). Das Versetzen begünstigte sehr diese Erscheinung, bei welcher aber auch noch verschiedene andere Ursachen, wie Bodenverhältnisse, Düngeranreicherung, Wurzelbrand u. dergl. in Betracht kommen.

Townsend[3]) berichtet über das Auftreten der sogenannten Kräuselkrankheit (curly-top), die bisher nur in den Vereinigten Staaten von Nordamerika aufgetreten ist. Die Ursache der Krankheit ist noch nicht bekannt, beachtenswert ist aber die Tatsache, daß die Krankheit auf einem Felde nicht in zwei aufeinanderfolgenden Jahren auftritt. Bei den erkrankten Pflanzen sind die Blätter erheblich kleiner, die Blattstiele kurz, die Blattspreiten schmäler, kürzer und deutlich gekräuselt, die Unterseite der Blätter ist rauh. Die Wurzeln — und das ist charakteristisch — zeigen eine starke Entwickelung der Haarwurzeln.

---

1) Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. p. 122.

2) Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. VI. 1908. p. 35.

3) U. S. Department of Agriculture, Bureau of Plant Industr. 1908. Bulletin No. 122.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die Rüben sind sehr holzig und lassen sich schwer zerschneiden. Im Innern der Wurzeln öfter auftretende Hohlräume sind für die Krankheit nicht charakteristisch.

Anschließend an die Beobachtungen Appels, nach denen Gerste, die bei niedrigen Temperaturen (+ 6° C) gekeimt war, sich in der Folge viel kräftiger entwickelte als solche, die bei + 22° C, also bei sogenannter Optimaltemperatur, aufgelaufen war, hat Gutzeit[1]) untersucht, wie sich Runkelrüben, die einerseits bei + 4° C, andererseits bei + 22° C zur Keimung gekommen waren, hinsichtlich der Bildung von Aufschuß verhalten. Es wurde Rübensamen von 8 Sorten (4 normale und 4 dazugehörige mit Disposition zum Schossen) verwendet und die Keimung wurde so geleitet, daß sowohl die bei + 4° C als die bei + 22° C aufgelaufenen Pflänzchen an demselben Tage gepflanzt werden konnten. Das Resultat war überraschend, denn von den bei + 22° C gekeimten Pflanzen zeigte auch nicht ein einziges Exemplar die geringste Neigung zum Schossen, während die Keimungstemperatur von + 4° C die Schoßdisposition, wo sie vorhanden war, derart auslöste, daß bis zu 30 Proz. der Pflanzen mehr oder weniger ausgebildete Schosser darstellten. Die Entstehung der Schoßrüben, ohne jedoch die Mitwirkung anderer Ursachen in Abrede stellen zu wollen, faßt Gutzeit dahin auf, daß die Umwandlung der wilden Stammpflanzen mit dünnen Wurzeln in Gewächse mit stark vegetativer Produktionskraft die Neigung, bereits im ersten Jahre Samen auszubilden, vielleicht etwas geschwächt, sie aber keineswegs unterdrückt haben mag. Das geschieht erst durch die übliche Aussaat in verhältnismäßig stärker erwärmten Boden (bei Rüben werden 9—10° C verlangt). Dadurch werden die Rüben zu rein vegetativem Wachstum, wie Winterungspflanzen, die man im Frühjahr aussät, geführt. Wird durch ungünstige Witterung die Bodentemperatur unter die gewöhnliche herabgesetzt, werden also Verhältnisse wiederhergestellt, unter denen Pflanzen unserer Zone im Kulturzustande zu keimen pflegen, so wird die stets mehr oder weniger vorhandene Disposition zum Schossen ausgelöst. Die verschiedene Individualität der Rübe machte sich auch dadurch bemerkbar, daß unter denselben Umständen, je nach der dem einzelnen Individuum innewohnenden Disposition zum Schossen, alle Uebergänge von einer gerade bemerkbaren Streckung der Achse bei sonst rein vegetativem Wachstum bis zur Ausbildung mächtiger Samenstengel zu finden waren. Bedeutungsvoll für die Züchtung schoßfreier Rassen ist vielleicht die Beobachtung, daß Samen, der von den Seitenknospen geköpfter Samenrüben stammte, erheblich weniger Aufschuß brachte, wie der von normalen Samenrüben derselben Sorte geerntete. — Gonnermann[2]) ist bezüglich der Entstehung von Schoßrüben der Ansicht, daß eine einzige Ursache, z. B. „Erkältung“, für diese Erscheinung nicht angenommen werden kann, sondern daß hier mehrere Ursachen zusammenwirken müssen, wie: individuelle Disposition, Keimfaulheit des Samens, zurückgehaltene Jugendentwickelung infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse, welche in der zweiten Entwickelungsperiode (Juni und Juli) die Wachstumsstörung einleiten und im weiteren Verlaufe, je nach der individuellen Eigenschaft der Pflanze, früher oder später geringere oder vermehrte Schoßbildung bedingen. Bemerkenswert ist,

---

[1]) Mitteil. a. d. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft. 1908. Heft 6. p. 20.

[2]) Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. XV. 1908. p. 312 u. 328.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß gerade geschälter Samen mehrfach einen ganz bedeutend höheren Prozentsatz an Schoßrüben geliefert hat, ein Samen, welcher gerade eine möglichst schnelle Entwickelung, daher geringere Wachstumsstockung bezwecken soll, als ungeschälter Samen. Im übrigen steht nach Beobachtung praktischer Landwirte fest, daß ein wesentlicher Unterschied in der Keimungsenergie zwischen geschältem und ungeschältem Samen nicht immer bemerkbar war. — Schubart[1]) hat sich mit dem Einfluß der Form der Rübensamenstauden auf die Schoßbildung beschäftigt und zu diesem Zwecke die verschiedenen Formen der Samenelitefelder genau beobachtet. Nach den bisherigen Beobachtungen läßt sich einstweilen sagen, daß sowohl die buschförmige als auch die stockförmige Form keinen Einfluß auf den Samen und damit zusammenhängende größere oder geringere Neigung zur Schoßbildung hat. Die buschförmige Form ist bis jetzt die vorherrschende und bietet mehr Garantie für eine gute Ernte.

Durch Rauch und Flugasche einer Brikettfabrik wurden nach Müller[2]) Rüben beschädigt, da der hohe Schwefelgehalt der oberflächlichen Bodenschichten, sowie der Aschenbelag auf den Blättern unzweifelhaft die Schadenquelle erkennen ließen. Aehnliche Schädigungen lagen bei einer anderen Brikettfabrik vor, und zwar bis zu einer Entfernung von 400 m.

B. Kartoffel.

Die in den Jahren 1904—1906 sehr zahlreich in Aroostook County aufgetretene Kartoffelblattlaus (Nectarophora solanifolii) wird von Patsch[3]) morphologisch und biologisch genau beschrieben. Als Bekämpfungsmittel werden empfohlen: Vernichtung von Unkraut in der Nähe der Kartoffelfelder, insbesondere des Hirtentäschels (Capsella Bursa pastoris), auf dessen Blättern der Schädling im Eistadium den Winter über sich aufhält. Aus dem gleichen Grunde ist der Anbau von Erbsen in der Fruchtfolge zu vermeiden. Auch das Verbrennen des alten Krautes hat sich gut bewährt und ist in der dortigen Gegend allgemein verbreitet. Natürliche Feinde sind: 1) Insekten: Adalia bipunctata und Hippodamia XIII punctata und Larven von Sirphus-Fliegen. 2) Pilze: Entomophthora planchoniana und E. aphidis.

Die Blattrollkrankheit der Kartoffel war Gegenstand so vieler Veröffentlichungen, daß nur ein ganz kurzer Hinweis möglich erscheint. Aufgerollt wurde die ganze Frage durch einen Artikel vom Grafen Arnim[4]), betitelt „Europas Kartoffelbau in Gefahr“, in welchem die Ansicht ausgesprochen wurde, daß, hauptsächlich durch die Blattrollkrankheit verursacht, in ganz Deutschland — mit Ausnahme vielleicht einiger unbekannt gebliebener Oasen und einiger Neuzüchtungen, die den Bedarf an Pflanzmaterial nicht decken können — gesunde Pflanzkartoffeln fehlen. Es müßten daher, im nationalen Interesse, Staat oder Reich mit großen Mitteln helfend eingreifen, da der Kartoffelbau zweifellos bedroht sei. Die Bekämpfung der Krankheit muß nach Arnim[1]) nach zwei Richtungen versucht werden: man muß gleichzeitig versuchen, gesunde Knollen zu erzielen und den Boden zu desinfizieren, ferner erscheint es auch möglich, gegen die Krankheit relativ widerstandsfähige Sorten zu züchten, deren es übrigens auch geben wird. Vibrans[2]) glaubt, daß Arnim weit über das Ziel hinausschießt, da es immer Kartoffelkrankheiten verschiedenster Art gegeben hat; Kartoffelkrankheiten treten hauptsächlich dort auf, wo die Kartoffeln zu schnell aufeinander folgen, und auch dort, wo die Witterungsverhältnisse ungünstig einwirken können, d. h. auf nassen und zu schweren Böden. Auch v. Lepel[3]) teilt die Befürchtungen Arnims nicht, wenngleich er die Gefährlichkeit der Krankheit, bei der Düngungs- und Bodenverhältnisse eine erhebliche Rolle zu spielen scheinen, nicht unterschätzt. Die Saatgutabteilung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft[4]) in Berlin hat beschlossen, an das Reichsamt des Inneren mit der Bitte um Gewährung zumindest einer halben Million Mark behufs Ergreifung von Maßregeln gegen diese Krankheit heranzutreten. Der Vorstand dieser Gesellschaft hat dieser Bitte entsprochen und sich auch an die in Betracht kommenden Behörden der Bundesstaaten gewendet und sie ersucht, die Versuchsstationen und andere pflanzenschützliche Organisationen auf die Beobachtungen und Erforschungen der Krankheit hinzuweisen. Im übrigen kamen in den Versammlungen der Saatgutabteilung gegenüber Arnim auch weniger pessimistische Ansichten zum Ausdrucke, da man sich dahin aussprach (Modrow, Edler, Hiltner), daß man die Gefahr durch geeignete Vorkehrungen kurz vor der Ernte genügend bekämpfen könne, daß weiter günstige Witterungsverhältnisse eine ausreichende Widerstandsfähigkeit herbeiführen würden und daß schließlich die Tatsache des Nichtauftretens der Krankheit auf von Nässe nicht heimgesuchten Gegenden zu hoffnungsvollen Ausblicken für die Zukunft berechtigte. Appel und Kreitz[5]) heben hervor, daß die Krankheit keine neue Erscheinung darstellt, sondern schon seit vielen Jahren unter dem Namen „Kräuselkrankheit“ bekannt ist. Ob bei der Entstehung der Krankheit immer derselbe Pilz vorhanden sein muß oder ob verschiedene in ihren Lebensäußerungen einander ähnliche Pilze dieselben Veränderungen an der Pflanze erzeugen können, ist noch nicht bekannt; am häufigsten sind jedoch Zugehörige der Pilzgattung Fusarium gefunden worden. Auf eine Fusarium-Art ist auch eine Form von Trockenfäule zurückzuführen, ohne daß ein direkter Zusammenhang mit der Blattrollkrankheit vorliegt; als besonderes Kennzeichen ersterer Krankheit können die auf der Schale der Kartoffel hervortretenden weißen Sporenhäufchen des Pilzes angesehen werden. Bei vereinzeltem Auftreten der Krankheit ist durch eine sorgfältige und möglichst frühzeitige Entfernung aller erkrankten Pflanzen gesundes Saatgut zu gewinnen. Ueber die Stärke des Auftretens der Krankheit und ihre Weiterentwickelung gehen die Urteile verschiedener Beobachter auseinander, denn während einige hervorheben, daß die Krankheit 1908 einen entschiedenen Rückgang erfahren hat, berichten andere wieder von einer beunruhigenden

---

[1]) Centralbl. f. d. Zuckerindustrie. Jahrg. XVI. 1908. p. 1051.

[2]) Tätigkeitsbericht der agrikultur-chemischen Versuchsstation Halle a. S. 1908. p. 10.

[3]) Bulletin der Landwirtschaftlichen Versuchsstation im Staate Maine. No. 147. November 1907. 4 Abbildungen.

[4]) Fühlings Landwirtsch. Ztg. Jahrg. LVII. 1908. p. 102.

---

[1]) Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 159.

[2]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 115.

[3]) Ebenda p. 152.

[4]) Zeitschr. d. Landwirtschaftskammer für die Provinz Schlesien. Jahrg. XII. 1908. p. 328.

[5]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 150. 1 farbige Tafel.

Ausbreitung. Störmer[1]) hat so in der Provinz Sachsen eine bedenkliche Ausbreitung vorgefunden, glaubt aber, daß die Krankheit bei günstigen Witterungsverhältnissen zurückgehen dürfte. Zur Bekämpfung erscheint eine strenge Auswahl des Saatgutes, namentlich auf schweren, nassen, undurchdringlichen Böden, notwendig, auf kleineren Flächen empfiehlt sich die Entfernung aller kranken Pflanzen während der Vegetation. Hiltner[2]) bringt Mitteilungen über die Ausbreitung der Krankheit in verschiedenen Teilen Deutschlands und erkennt es als richtig an, daß sie in den letzten 4 Jahren namentlich in der Rheinprovinz und Westfalen einen außerordentlichen Schaden verursacht hat; im Jahre 1907 trat die Krankheit allem Anschein nach in fast ganz Norddeutschland und auch in Mitteldeutschland auf, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß die Witterungsverhältnisse 1907 in Norddeutschland die denkbar ungünstigsten waren, während in Süddeutschland, namentlich im rechtsrheinischen Bayern, die Verhältnisse umgekehrt lagen, da man hier eine Ernte hatte, wie seit 15 Jahren nicht mehr. Versuche haben gelehrt, daß auf gewissen Bodenarten eine Ausheilung erfolgen kann, ja es gibt sogar Gegenden und Bodenarten, die für die Kartoffeln gewissermaßen Sanatorien darstellen, und diese Erkenntnis dürfte für die Zukunft des Kartoffelbaues recht bedeutungsvoll werden. Hiltner, der vermutet, daß die ungewöhnliche Trockenheit des Jahres 1904/05 die Hauptveranlassung zu der großen Ausdehnung der Krankheit gegeben haben dürfte, glaubt auch, daß sie schon durch eine direkte Kalkung zur Kartoffel bekämpft werden könnte. Der Umstand, daß sich die Krankheit in Bayern nur dort zeigte, wo intensiver Kartoffelbau herrscht, legt ihm die Vermutung nahe, daß sie durch allzu stark forzierten Kartoffelbau begünstigt wird. Wer bei Kartoffeln die richtige Fruchtfolge einhält, ausreichend mit Stallmist düngt, fleißig behackt, von Zeit zu Zeit einen Saatgutwechsel vornimmt, das Saatgut prüfen läßt und die Kartoffeln nicht schon vor deren vollständigen Reife erntet, braucht sich zunächst keiner allzu großen Sorge hinzugeben. Bezüglich der Ursache der Krankheit ist Hiltner[3]) der Ansicht, daß Fusarium-Arten und wohl auch Bakterien keineswegs als Ursache oder Erreger anzusprechen sind; wo sie sich finden, scheinen sie nur die Krankheitsursache zu verstärken. Nach Grosser[4]) ist die Krankheit in Preußisch-Schlesien bis jetzt nur ganz sporadisch aufgetreten, so daß die pessimistischen Ansichten Arnims als verfrüht erscheinen; vielfach wurde die Krankheit mit der Bunt- oder Eisenfleckigkeit verwechselt. Spieckermann[5]) glaubt ebenfalls, daß zu Befürchtungen zurzeit kein Grund vorliege, selbst nicht in Westfalen, wo die stärker bedrohten Kreise durch Nachschub gesunden Pflanzgutes, sorgfältige Ausmerzung kranker Büsche und kräftige Düngung genügende Ernten erzielen könnten, bis völlige Klarheit über das Wesen der Krankheit erhalten und Mittel zu ihrer Bekämpfung erprobt sind. In Württemberg ist nach Adlung[6]) die Krankheit wohl aufgetreten, doch kann von einer beängstigenden Ausbreitung keine Rede sein. Die Ur-

---

1) Landwirtsch. Wochenschr. für die Provinz Sachsen. Jahrg. X. 1908. p. 156.

2) Bericht über die Tätigkeit der Kgl. Agrikultur-Botanischen Anstalt in München im Jahre 1907. München 1908. p. 79 und Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. VI. 1908. p. 43.

3) Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. VI. 1908. p. 86.

4) Zeitschrift der Landwirtschaftskammer für die Provinz Schlesien. Jahrg. XII. 1908. p. 579.

5) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 158 u. 315.

6) Ebenda p. 223.

sache liegt vielleicht darin, daß die Knollen sehr stärkereich sind, da nach Appel stärkearme Knollen leichter durch Bakterien angegriffen werden, und weiter darin, daß in Württemberg nur alle 6—8 Jahre auf einem Felde Kartoffeln folgen. Für Posen und Schlesien hat v. Stiegler[1]) die Entwickelung der Kartoffeln im allgemeinen als durchaus normal gefunden und schließt sich daher der Ansicht Arnims nicht an, welcher Meinung jedoch Bünger[2]), gestützt auf die Erfahrungen in Westfalen, wo die befallenen Felder trostlos aussehen, entgegentritt. Richter[3]) erklärt ein Gesunden der von den kranken Pflanzen geernteten Knollen als nicht ganz ausgeschlossen, doch ist es besser, die erkrankten Pflanzen rechtzeitig zu entfernen. Die von ihm seinerzeit ausgesprochene Ansicht, daß die Krankheit mehr noch von Boden- und ungünstigen Witterungseinflüssen, als von der Individualität der Sorte abhängig sein müsse, hat er bestätigen können. In der Folge hat auch Arnim[4]) wieder das Wort ergriffen und betont, daß diejenigen Veröffentlichungen, die seine Befürchtungen als übertrieben bezeichnen, zu früh erschienen sind, d. h. sich auf zu einer Zeit gemachte Beobachtungen gründen, wo die Krankheit erfahrungsgemäß noch nicht deutlich in die Erscheinung zu treten pflegt. Von einer Selbstheilung der Kartoffeln könne keine Rede sein, und scheinbare Besserungen dürfen nicht täuschen. Schließlich betont Arnim, daß, soweit er unterrichtet ist, die Krankheit überall in Europa, stellenweise bereits verheerend, auftritt. Weitere Mitteilungen in der Literatur lassen aber erkennen, daß die Mehrzahl der Beobachter den Standpunkt Arnims nicht teilt. Nach Meyer[5]) ist die Gefahr, fußend auf die Beobachtungen 1908, keine große, wie die Blattrollkrankheit auch zu jenen Krankheiten gehört, welche dann in Erscheinung treten, wenn ihre Lebensbedingungen voll erfüllt werden, und verschwinden, sobald dies nicht mehr der Fall ist. Auch Oetken[6]) hält die Befürchtungen Arnims für stark übertrieben, überraschend war aber bei seinen Beobachtungen, daß die Krankheit plötzlich und heftig auf im Vorjahre noch ganz gesunden Sorten auftrat. Auf das Auftreten der Krankheit haben die Wachstumsbedingungen bezw. die Kulturverhältnisse einen großen Einfluß. Daß ferner bei der Entstehung der Krankheit auch Verhältnisse mitsprechen, die in der stofflichen Zusammensetzung der Mutterknolle oder in dem Aufbau ihres Zellgewebes begründet sind, scheint Oetken die bisher noch nicht genügend hervorgehobene Tatsache zu beweisen, daß sehr häufig bei Stauden, die die charakteristischen Zeichen der Krankheit aufweisen, die Mutterknolle ganz unverändert geblieben ist; wäre sie normal aufgebaut, so hätte sie entweder aufgezehrt oder in Fäulnis übergehen müssen. Dyhrenfurth[7]) hat von einer Kartoffel, die Arnim Februar 1908 als zu 80 Proz. mit der Krankheit befallen bezeichnet hat, Mengen auf einer größeren Fläche angebaut, ohne daß die Krankheit aufgetreten wäre. Flato[8]) hat neues Saatgut, und zwar Magnum und auf der Restfläche alte, haselnußgroße Magnumknollen, mit dem Resultat ausgelegt, daß die neubezogene Sorte im

---

[1]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 562.

[2]) Ebenda p. 621.

[3]) Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 774.

[4]) Mitteil. d. Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft. Jahrg. XXIII. 1908. p. 313 und Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 620.

[5]) Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 803.

[6]) Ebenda p. 806.

[7]) Ebenda p. 846.

[8]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 637.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

höchsten Grade erkrankte, während die alte Sorte „durchseucht" zu sein scheint und eine gute Ernte verspricht. Nach Richter[1]) wäre in Erwägung zu ziehen, inwieweit die Erkrankung von der Bodenbeschaffenheit und dem Klima beeinflußt wird. Die Saat scheint eine geringere Rolle zu spielen, und es handelt sich allem Anschein nach wieder um eine Epidemie, die unaufhaltsam um sich greift, bis die Virulenz des Krankheitserregers von selbst erschlafft und die Epidemie ohne Zutun verschwindet. Foitik[2]) hält die Krankheit für eine Folge von Kalimangel, da sie namentlich auf leichten Böden, die bekanntlich an Kalimangel leiden, auftritt. Nach Versuchen von Sierig[3]) ist es sehr wohl möglich, durch Auswahl gesunder Knollen der Krankheit Herr zu werden, allerdings nicht in kurzer Zeit, sondern nach Jahren. Von Wichtigkeit ist auch die sorgfältig ausgeführte Aufbewahrung der Kartoffeln über Winter. Weiter betont Sierig, daß der Züchter in der Selektion bedeutend weiter gehen und möglichst viel einzelne Stauden getrennt halten solle, da es sehr wahrscheinlich sei, daß die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Stauden eine verschiedene ist, und diese sich auch in der Vererbung geltend machen wird. Schander[4]) hat durch Versuche festgestellt, daß die Krankheit in den Knollen überwintert und durch dieselben verbreitet wird. Auch er bezeichnet die Befürchtungen Arnims als übertrieben. Düngung, Beizung der Saatknollen, die Art der Pflanzung sowie die Bodenart scheinen irgendwelchen Einfluß auf das Auftreten der Krankheit im allgemeinen nicht auszuüben, wie weit jedoch diese Faktoren die Entstehung der Krankheit zu beeinflussen vermögen, bedarf noch genauer Untersuchung. Die Ursache der Erkrankung liegt in der Saatknolle, und es dürfte daher die Auswahl gesunder Saatkartoffeln, wofür Schander Anhaltspunkte gibt, der einzige Weg zur Begegnung der Krankheit sein. Betten[5]) hält wieder die Ringkrankheit und die Blattrollkrankheit für identisch und hat durch Versuche bewiesen, daß letztere Krankheit im wesentlichen durch ungünstige Verhältnisse hervorgerufen wird und mit dem Schwinden derselben von selbst aufhört. Sie ist in erster Linie die Folge nasser Sommer und wird sich durch sorgfältige Bodenbearbeitung (gute Durchlüftung) und möglichst frühzeitige und wiederholte Bearbeitung der Kartoffelfelder in Schranken halten lassen. Sorauer[6]) teilt ebenfalls nicht den Standpunkt Arnims und hat über die Krankheit überhaupt abweichende Ansichten. Da die von ihm untersuchten typisch kranken Knollen denen früherer Jahre gleichen und die verfärbten Flächen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle keinen parasitären Charakter erkennen lassen, so sind diese Gefäßverfärbungen und Flecke im Fleisch als eine selbständige, mit einer Pilzerkrankung nicht in direktem Zusammenhange stehende Erscheinung zu bezeichnen. Letztere hängt mit einer physiologischen Störung zusammen, die sich in enzymatischen Abweichungen und lokalen Zuckeranhäufungen äußert, welche man mikrochemisch nachweisen kann. Diese bisher unberücksichtigt gebliebenen Veränderungen in den Knollen treten am stärksten nach feuchten Jahren auf, ebenso findet man diese Merkmale, wenn die Knollen stark gedüngt wurden oder ungenügend durchlüfteten Boden hatten u. dgl. Die Ansicht, daß es sich um eine Deutschlands Kartoffelbau bedrohende Pilzepidemie handelt, ist durch den schweren Irrtum veranlaßt worden, daß die erwähnte Gefäßbündelverfärbung ein typisches Merkmal der Krankheit sei und durch den Pilz verursacht werde, was aber bestimmt nicht der Fall ist.

---

[1]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 152.

[2]) Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 863.

[3]) Zeitschrift f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXXI. 1908. p. 416. 6 Abbildungen.

[4]) Illustrierte Landwirtsch. Ztg. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 797. 5 Abbildungen.

[5]) Erfurter Führer in Obst- und Gartenbau. Jahrg. IX. 1908. p. 154.

[6]) Internationaler phytopathologischer Dienst. Jahrg. I. 1908. p. 33. 1 Tafel; Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 640; Monatshefte f. Landwirtschaft. Jahrg. I. 1908. p. 241.

Appel und Kreitz[1]) heben hervor, daß die Bakterienringkrankheit nur unter solchen Bedingungen auftritt, die den im Boden augenscheinlich weit verbreiteten Bakterien Eingangspforten in die Pflanze verschaffen. Die Umstände hierzu sind noch nicht näher bekannt, hängen aber jedenfalls von Witterungsverhältnissen während des Auflaufens zusammen; sicher ist, daß das Auslegen zerschnittener Knollen das Auftreten der Krankheit begünstigt. Ist man nun aus wirtschaftlichen Gründen gezwungen, zerschnittenes Saatgut auszulegen, so schneidet man die Knollen einige Zeit vor dem Auslegen, breitet sie dünn aus, bedeckt sie mit mäßig feuchten Säcken und läßt sie so bis zum Auslegen liegen. Auf diese Weise vernarbt die Wundfläche. Bei geringem Befall sind alle kranken Stöcke zu entfernen, bei dem Auftreten einer Epidemie muß man suchen, durch Beschaffung von neuem Saatgut wieder zu gesunden Kartoffeln zu gelangen. Schander[2]) teilt mit, daß es ihm nicht gelungen ist, durch die Beurteilung des Querschnittes der Knollen, wie dies Appel angibt, einen untrüglichen Anlaß für das Vorhandensein der Bakterienringkrankheit zu finden, daß er vielmehr erst während der Vegetationsperiode am Kraut verschiedener Sorten eine Krankheitserscheinung beobachtete, die mit der von Appel beschriebenen Bakterienringkrankheit identisch erschien. Schander beobachtete ferner im Frühjahr 1908 im hohen Grade (bis 80 Proz.) eine Verfärbung des inneren Gewebes, die sich entweder in einer dunkleren Färbung des Ringes oder in schwarzbraunen Flecken des Parenchymgewebes zu erkennen gab und Bakterieninfektion zeigte. Die Knollen verfaulten sehr schnell im Boden und entwickelten meist eine sehr geringe Anzahl von Trieben. Infolge günstiger Juni- und Juliwitterung blieben aber die erwachsenen Stauden vollkommen gesund. Schander ist der Ansicht, daß diese Krankheit mit der Bakterienringkrankheit nicht zu identifizieren ist, sondern eine vorübergehende Infektion der Knollen mit Bakterien, veranlaßt durch das ungünstige Wetter im Sommer 1907, darstellt. Die neugewachsenen Knollen gaben wohl relativ geringe Erträge, waren aber sonst vollkommen gesund. Betten[3]) hält die Ring- und Blattrollkrankheit anscheinend für identisch und hat durch Versuche bewiesen, daß ringkranke Kartoffeln bei guter Kultur völlig gesund bleiben und gute Ernten liefern. Schmidt[4]) bezeichnet die Bakterienringkrankheit als eine der verheerendsten Kartoffelkrankheiten. Zur Bekämpfung der Krankheit läßt Schmidt seit Jahren regelmäßig im August alle wurzelfaulen Kartoffeln (das sind meist die Kartoffeln, die an der Ringkrankheit leiden) aus dem Boden nehmen, wozu aber viel Energie und Arbeiter gehören. Ringkranke Knollen haben eine vollständig dunkle Stärke, die aber bei Behandlung mit schwefeliger Säure und Schwefelsäure schließlich hell wird.

---

1) Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 216. Mit einer farbigen Tafel.

2) Ebenda p. 797.

3) Erfurter Führer in Obst- und Gartenbau. Jahrg. IX. 1908. p. 154. 8 Abbildungen.

4) Jahrbuch des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland. Jahrg. VIII. 1908. p. 261.

Schneider[1]) berichtet über das Auftreten einer eigenartigen neuen Kartoffelkrankheit im Landkreise Düsseldorf, die sich dahin äußert, daß die kranken Knollen auf ihrer Oberfläche krebsartige, warzige Wucherungen zeigen, die fast die Größe eines Hühnereies erreichen können. In der äußeren Gestalt traten zwei Formen auf: entweder tragen die Knollen in größerem oder geringerem Maße diese Wucherungen, sind aber beim Durchschneiden meistens gesund oder an den Stolonen hängen rudimentäre Gebilde, die nur aus Warzen bestehen und von einer Knolle nichts mehr erkennen lassen. Der Erreger der Krankheit wurde 1896 von Schilbersky als Chrysophlyctis endobiotica bezeichnet. Von der Krankheit wurden ganze Felder befallen, namentlich aber solche, die viel mit Steinkohlenasche, Kehricht und Abortinhalt gedüngt worden sind. Nach der Beobachtung von Jösting[2]) ist die Krankheit ziemlich verbreitet aufgetreten, aber nur dort, wo ununterbrochen Kartoffelbau betrieben worden ist, worin jedenfalls die eigentliche Ursache der Krankheit zu suchen ist. Die kleineren Landwirte bezeichnen die Krankheit als „Kartoffelkrebs“ und behaupten, daß der Genuß derartig erkrankter Kartoffeln auch beim Menschen den Krebs erzeugen könne. Die Krankheit zeigt sich nur auf den Knollen, die in bräunliche Massen zerfallen, während die Blätter sich oft üppig entwickeln können. Die Düngung scheint ohne Einfluß zu sein, ebenso auch die Witterung. Zu vermuten ist, daß der Pilz oder dessen Sporen im Boden überwintern. Ein Aussetzen des Kartoffelbaues soll die Krankheit eindämmen. Die Krankheit bildet zweifellos eine große Gefahr für den Kartoffelbau, zumal nicht ausgeschlossen ist, daß sie mit dem Saatgut aus dem Ausland (bisher war sie nur in Oberungarn und in England bekannt) eingeschleppt werden kann. Mit dieser Krankheit hat sich weiterhin Appel[3]) beschäftigt, der hervorhebt, daß die Entwickelungsgeschichte des Pilzes, welcher sicher in die Ordnung der Chytridiaceen gehört, noch nicht genau bekannt ist. Da die Krankheit in größerem Maße nur dort auftritt, wo die Kartoffeln jahrelang hintereinander angebaut werden, so ist auf solchen Feldern der Anbau 3—4 Jahre auszusetzen. Kranke Knollen dürfen als Saatgut nicht verwendet werden, außerdem sind die Kartoffelabfälle radikal zu entfernen.

v. Eckenbrecher[4]) hat beim Durchschneiden verschiedenster Kartoffelsorten violett oder bläulich gefärbte Streifen beobachtet, eine Erscheinung, für die noch eine Erklärung fehlt und die vorzugsweise bei solchen Knollen vorkommt, welche auf dem Felde längere Zeit von Erde unbedeckt lagen und infolgedessen grün geworden waren. Die Eisenfleckigkeit, eine ziemlich häufig auftretende Erscheinung, ist nach Grosser[5]) allem Anscheine nach auf Ernährungsstörungen irgendwelcher Art zurückzuführen. Da diese Fleckenbildung (soweit bis jetzt nachgewiesen) nicht erblich ist, so kann die nur für Speisezwecke minderwertige Kartoffel für technische und für Saatzwecke noch gut Verwendung finden.

Appel und Kreitz[6]) beschäftigen sich mit der Kraut- und Knollenfäule, der bekanntesten aller Kartoffelkrankheiten, beschreiben die Erscheinungen, unter welchen die Krankheit auftritt, ferner die Entwickelung des die Krankheit verursachenden Pilzes Phytophthora infestans und geben schließlich Mittel zur erfolgreichen Bekämpfung (Bespritzen des Krautes mit 2-proz. Bordeauxbrühe, Züchtung widerstandsfähiger Sorten, rationelle Aufbewahrung der Kartoffeln in den Mieten) an. Um Kartoffeln sicher vor Fäulnis zu schützen, empfiehlt Heinsius 1) auf den Boden der Mieten eine dünne Lage von ungelöschtem feingepulverten Kalk zu streuen, hiernach die Kartoffeln 12—13 cm hoch zu schichten, dann wieder Kalk zu streuen usf. Der Pilz Phytophthora infestans ist nach Bauer 2) 1908 infolge der herrschenden feuchten Witterung trotz der verhältnismäßig niederen Temperatur in manchen Gegenden so überraschend schnell aufgetreten, daß Felder innerhalb 8 Tagen vollständig befallen waren. Die Krankheit ist jedoch nicht für alle Pflanzen gleich gefährlich, da die einzelnen Sorten verschieden widerstandsfähig sind.

---

[1]) Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 832. 2 Abbildungen.

[2]) Ebenda p, 882 und 923.

[3]) Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 830. 2 Abbildungen.

[4]) Zeitschrift für Spiritusindustrie. Ergänzungsheft. 1908. p. 33.

[5]) Zeitschrift der Landwirtschaftskammer für die Provinz Schlesien. Jahrg. XII. 1908. p. 579.

[6]) Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 150. Mit einer Kunstbeilage.

Die Winterfäule der Kartoffeln 3) (Winter-rot of potatos) wird durch den Pilz Nectria Solani (bezw. Fusarium) hervorgerufen. Das beste Vorbeugungsmittel ist, die Kartoffeln gut trocken einzubringen und die Mieten genügend zu ventilieren. Ueber die Kartoffeln ausgestreuter gepulverter Schwefel (2 Pfund auf 1 Tonne = 1016 kg) zerstört den Pilz und hält außerdem die Pilzsporen verschleppenden Milben ferne. Infizierte Felder sollen mit Kainit oder Kalk in Form von Kopfdüngung gedüngt werden und zwar mit 5—6 crot (1 crot = 50,8 kg) per Acre (1 Acre = 40,47 ar).

Magerstein 4) beschreibt die Fusarium-Kartoffelkrankheit (Fusarium solani), insoweit diese Beschreibung für den Landwirt von Wichtigkeit ist und bemerkt, daß möglicherweise die Düngung mit frischem Stalldünger die Entwickelung des Pilzes begünstigt, da es kaum ein bloßer Zweifel sein dürfte, daß die Krankheit meist nach dieser Düngung auftritt.

In Dänemark hat Rostrup 5) das Auftreten von Spondylocladium atrovirens beobachtet, welcher Pilz bis jetzt nur aus der Umgebung von Wien bekannt und in der phytopathologischen Literatur nicht erwähnt worden ist. Die ganze Oberfläche der von diesem Pilz angegriffenen, sonst gesunden Kartoffelknolle erwies sich mit einem dunkel olivengrünen, beinahe schwärzlichen, dünnfilzigen Ueberzug bedeckt, bestehend aus braunen, gegliederten Hyphen, welche die braunen, mit 5—7 Scheidewänden versehenen, 50—65 μ langen und 7—8 μ dicken Konidien trugen.

Die Schwarzbeinigkeit wird nach Appel und Kreitz 6) augenscheinlich durch mehrere, in ihren Eigenschaften einander nahestehende Bakterien veranlaßt. Ein Beizen der Saatknollen mit Kupfervitriol, Sublimat etc. ist nicht zu empfehlen, da sehr leicht die Augen abgetötet

---

1) Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. XI. Jahrg. 1908. p. 183.

2) Hessische Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LXXVIII. 1908. p. 487.

3) Flugblatt No. 193 des Pflanzenschutzes in England. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. VI. 1908. p. 70.

4) Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 447.

5) Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Jahrg. XVII. 1908. p. 341.

6) Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. p. 216. Mit einer farbigen Tafel.

werden können. Besser und einfacher ist es, die Kartoffeln möglichst trocken und kühl aufzubewahren.

Im weiteren Verfolg der von Appel und Kreitz seit längerer Zeit begonnenen Arbeiten über die Kartoffelkrankheiten erwies sich, wie Appel[1]) hervorhebt, als notwendig, der Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Sorten besondere Aufmerksamkeit zu schenken. Die Tatsache, daß manche Sorten mehr, andere weniger unter Krankheiten zu leiden haben, ist eine allgemein bekannte. Während man aber bisher gesucht hat, auf empirischem Wege die widerstandsfähigsten Sorten auszusuchen, scheint es aber Appel richtiger, auf wissenschaftlicher Grundlage diejenigen Faktoren festzustellen, die die Widerstandsfähigkeit bedingen. Dieser Weg ist vielleicht mühevoller, aber zweifellos sicherer und auch deshalb einzuschlagen, weil er die Aussicht eröffnet, tiefer in die Kenntnis der Lebensverhältnisse der untersuchten Pflanzen einzudringen. Für die Arbeiten in diesem Sinne muß vor allem festgehalten werden, daß es eine Prädisposition für Kartoffelkrankheiten im allgemeinen nicht gibt, daß vielmehr jede einzelne Krankheit durch besondere Umstände beeinflußt wird. Aus diesen Gründen wurde zunächst eine einzelne Krankheit in den Kreis der Untersuchungen gezogen und dazu die durch Bacillus phytophthorus und seine nächsten Verwandten hervorgerufene Kartoffelfäule gewählt. Im Laufe der Arbeit zeigte es sich aber, daß die Kartoffelschale eine Rolle hierbei spielt und daraus ergab sich die Notwendigkeit, zunächst diese eingehend zu untersuchen, was durch Kreitz[2]) geschehen ist. Auf diese Arbeit kann aber, da sie nicht in den Rahmen vorliegender Zusammenstellung fällt, nicht weiter eingegangen werden.

Eingehende Versuche über die Beeinflussung der Assimilationstätigkeit von Kartoffelpflanzen durch Bespritzen mit Kupfervitriolkalkbrühe hat Kirchner[3]) angestellt und sollten diese Versuche einen weiteren Beitrag zur Lösung dieser vielfach und unter verschiedenen Umständen ventilierten Frage bieten. Kirchner gibt zuerst eine Literaturzusammenstellung über die einschlägigen Versuche, um dann auf seine im Jahre 1904 begonnenen Kartoffelanbauversuche überzugehen, die den Zweck verfolgten, durch neue Erfahrungen zur Klärung der Frage nach der unmittelbaren Wirkung der Kupfervitriolkalkbrühen auf den Ernteertrag beizutragen. Bezüglich dieser umfangreichen Untersuchungen, deren Wiedergabe in Kürze nicht möglich erscheint, muß auf das Original verwiesen werden. Bemerkt sei nur noch, daß weitere Untersuchungen den Einfluß verschiedener Faktoren, auch das möglicherweise verschiedene Verhalten der einzelnen Sorten feststellen sollen.

Matenaers[4]) wundert sich, nirgend in der deutschen Fachpresse bei der Erörterung von Abwehr- und Schutzmaßregeln eine Diskussion über geeignetes Besprenkeln der wachsenden Kartoffeln zum Schutz gegen Insekten sowohl wie vor allem auch gegen Krankheiten gelesen zu haben, ein Verfahren, das in Nordamerika wirksame und greifbare Resultate ergeben hat und außerdem leicht und billig durchzuführen ist. Das Besprenkeln, am vorteilhaftesten mit einem hierfür adaptierten mehrreihigen, von einem Pferde gezogenen Faßwagen mit Sprenkelvorrichtung durchgeführt, erfolgt zuerst bei den 6—8 Zoll hohen Kartoffeln und wird dann alle 10—14 Tage, im allgemeinen während der ganzen Vegetations-

---

1) Arbeiten aus der Kaiserl. Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. p. 1.

2) Ebenda p. 2.

3) Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XVIII. 1908. p. 65.

4) Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXXV. 1908. p. 598.

periode, 6mal wiederholt. Am wirksamsten erwies sich eine Kupfervitriolkalklösung, bestehend aus 4 Pfund Kupfervitriol, 4 Pfund Kalk und 50 Gallonen Wasser (1 Gallone = 4,543 Liter), eventuell unter Zusatz von 1—2 Pfund Pariser Grün. In Nordamerika hat sich gezeigt, daß das Besprenkeln ein wirksames Schutzmittel gegen alle dort auftretenden Kartoffelkrankheiten und Schädlinge ist. Dabei hat man allerdings auch durch gesundes, gutes Saatgut, sowie durch einen geeigneten Fruchtwechsel dafür zu sorgen, daß die Krankheiten nicht förmlich eingeschleppt werden.

Ueber die im Staate Maine 1907 aufgetretenen Kartoffelkrankheiten gibt Morse[1]) kurze Notizen und behandelt dann eine Reihe von Fragen über Maßregeln gegen diese Krankheiten, bestehend in Beizen des Saatgutes und Bespritzen des Krautes. Weiterhin geben Stone und Fernald[2]) eine Reihe von Rezepten für Pilz- und Insektenbekämpfungsmittel, so insbesondere gegen folgende Kartoffelkrankheiten und -Schädlinge: Frühbefall (Alternaria solani), Spätbefall (Phytophthora infestans), Schorf, Kartoffelkäfer und Erdfloh.

Remy[3]) zweifelt auf Grund der früheren Untersuchungen von Ehrenberg, Heine und Paulsen an der Richtigkeit der Annahme, nach der sämtliche Kartoffelsorten nur wenige Jahre auf der Höhe ihrer Leistungen bleiben, um dann einer unvermeidlichen Entartung anheimzufallen. Ob die Sortendegeneration mit zunehmendem Alter überhaupt eintritt, muß unentschieden bleiben, ebensowenig darf der für eine Anzahl Sorten geführte Nachweis, daß ein sichtbares Altern in 20 bis 30 Jahren eingetreten ist, ohne weiteres verallgemeinert werden. Sicher ist aber, daß alte sowie neue Sorten unter dem Einfluß wenig zusagender Lebensbedingungen entarten können, ein Schicksal, das die Kartoffel mit allen übrigen Kulturgewächsen teilt. Zur Erhaltung der Sorte gilt es, nur Saat aus Oertlichkeiten zu beziehen, die der betreffenden Sorte besonders zusagen, um sie zu ihrer alten Leistungsfähigkeit zurückzuführen. Mit dem wirklichen ist der scheinbare Abbau, unter welchem ein Zurückbleiben einer Sorte in bezug auf Leistungsfähigkeit hinter neuen, besseren Sorten zu verstehen ist, natürlich nicht zu verwechseln. Auf die Ueberholung der alten durch neue Sorten, welche besser sind oder den speziellen Bedarfszwecken mehr entsprechen, ist wohl die weitverbreitete Meinung von der notwendigen Degeneration der älteren Sorten im letzten Grunde zurückzuführen. Magerstein[4]) rekapituliert an der Hand der Literatur die Frage des Abbaues der Kartoffeln, dessen Ursachen seitens Praktiker in folgenden Umständen liegen: Stets vorgenommene Vermehrung auf ungeschlechtlichem Wege, Boden- und klimatische Verhältnisse, wenig entwickeltes und krankes Saatgut (sogenannte Vernachlässigung der Auswahl des Saatgutes). Der Rückgang der Kartoffeln ist mit einer Ertragsverminderung, Abnahme des Stärkegehaltes und einer höheren Empfindlichkeit für die Kartoffelfäule verbunden. Nach Foitik[5]) sind nicht die Sorten, sondern Boden, Klima und Witterung der springende Punkt im Kartoffelbau. Der Abbau stellt nur eine örtliche Degeneration dar, die mit der Sorte gar nichts zu tun hat.

---

1) Bulletin der landwirtschaftlichen Versuchsstation im Staate Maine. No. 149. Dezember 1907. 6 Abbildungen.

2) Bulletin der landwirtschaftlichen Versuchsstation im Staate Massachusetts. No. 123. April 1908.

3) Fühlings Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVII. 1908. p. 82.

4) Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 171 und Oesterreichische Brennereizeitung. Jahrg. VI. 1908. p. 101 und 113.

5) Monatshefte für Landwirtschaft. Jahrg. I. 1908. p. 182.

Nachdruck verboten.

Die Krankheiten und Schädlinge des Kaffees. II.

Fortsetzung aus Bd. XXI. No. 4—6.

Von Dr. **F. C. von Faber.**

Mit 28 Figuren.

7. Stilbella flavida (Cooke) Lindau[1]) (Hyphomycetes).

8. Mycosphaerella coffeicola (Cooke) Johans.[2]) (Sphaeriales).

Beide Pilze kommen häufig zusammen auf Kaffeeblättern vor, allem Anschein nach aber nur zufällig.

Kohl[3]), der die von Stilbella flavida hervorgerufene Krankheit einer eingehenden Untersuchung unterworfen hat, bemerkt, daß man in manchen Verbreitungsbezirken Mycosphaerella auf Stilbella-Flecken antrifft; umgekehrt hat er häufig Mycosphaerella-Infektionen gefunden, ohne daß Stilbella festgestellt werden konnte.

Die von beiden Pilzen hervorgerufene Krankheit wurde zuerst ca. 1876 in Kolumbien von Saenz gefunden. Anfangs wurde sie mit Koleroga und Hemileia verwechselt[4]), bis Cooke[5]) nachwies, daß man es mit einer ganz anderen Krankheit zu tun hatte. Cooke erwähnt das Auftreten der Seuche in Neu-Caledonien, Venezuela, Costa-Rica. Nach Saenz[6]) kommt sie in San-Salvador, Mexico[7]) und Guatamala[8]) vor, und Puttemanns[9]) erwähnt ihr Auftreten im Staate São Paulo, Hecq[10]) in Peru, Cockerell, Tawcett und Guggenbühl in Jamaica und Porto-Rico. Die Hauptverbreitung der Krankheit erfolgt während der feuchten Jahreszeit, bei niedriger Temperatur; sie beginnt besonders in den höher gelegenen Teilen der Pflanzung und dehnt sich unter günstigen Witterungsverhältnissen rasch aus.

Hauptsächlich schwächliche Bäume oder solche, die in einem ihnen nichtzusagenden Boden wachsen, werden von dem Befall besonders mitgenommen. Während der Trockenzeit treten die Krankheitserscheinungen weniger auf, um meist nach dem ersten Regen um so intensiver zum Vorschein zu kommen. Außer feuchter Witterung beeinflussen dichter Baumstand und starke Beschattung die Ausdehnung der Krankheit günstig.

Die befallenen Bäume sind nicht selten gänzlich kahl, da die erkrankten Blätter und Früchte abfallen.

---

1) Ursprünglich von Cooke Stilbum flavidum benannt. Da Stilbum vulgare, der Typus der alten Todeschen Gattung, ein Basidiomycet ist, so war ein neuer Name einzuführen, und die Pilzgattung, deren Arten sich wie Stilbum flavidum verhalten, wurde von Lindau Stilbella benannt.

2) Ursprünglich Sphaerella genannt. Da dieser Name bereits für eine Volvocaceae-Gattung früher publiziert worden ist, so ist eine Namensänderung, wie Schröter bemerkt, notwendig. Es empfiehlt sich daher, den von Johanson vorgeschlagenen Namen Mycosphaerella zu wählen.

3) Beihefte zum „Tropenpflanzer". Jahrg. 1903. p. 61.

4) Siehe Delacroix, L'agric. prat. d. pays chauds. 1907. No. 54. p. 237.

5) The coffee disease in South America.

6) Tropical Agriculturist. 1894—1895. p. 13.

7) Ebenda. 1897. p. 630.

8) Ebenda. 1897. p. 631.

9) Sur la maladie du caféier produite par le Stilbella flavida. (Bull. de la Soc. mycol. T. XX. 1904. p. 157.)

10) Bol. Minist. Fomento. 1906. No. 4.

Die auf Blättern und Früchten verursachten Flecke sind rund, anfangs dunkelgrün, später fast weiß, und sowohl auf der Blattober- als Unterseite vorhanden; sie sind von einem etwas erhabenen, braunen oder rötlich gefärbten schmalen Rand begrenzt, etwa $^1/_2$—$1^1/_2$ cm im Durchmesser groß und häufig konzentrisch gestreift. In der Mitte der Flecke sind die Fruktifikationsorgane der Pilze wahrnehmbar (Fig. 13).

Stilbella flavida wird wohl am häufigsten auf den Flecken gefunden; Cooke will auf den Früchten ausschließlich diesen Pilz konstatiert haben.

Während die Fruktifikationsorgane von Stilbella als kleine, gelbliche, mit einem runden Köpfchen versehene Stielchen erkenntlich sind, sind diese von Mycosphaerella coffeicola (Cooke), Johans. als kleine schwarze, runde Wärzchen wahrnehmbar.

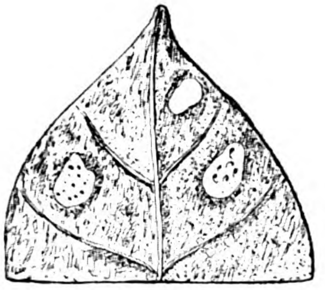


Fig. 13.

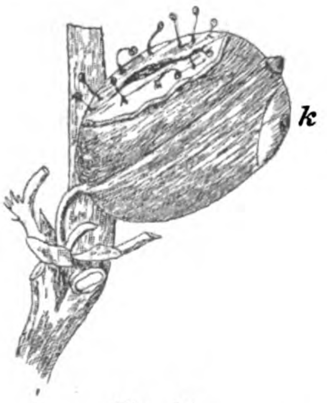


Fig. 14.

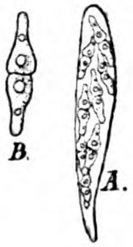


Fig. 15.

Fig. 13. Krankes Blatt mit Flecken, rechts von Stilbella und links von Mycosphaerella hervorgerufen.

Fig. 14. Eine kranke, trockne Kaffeefrucht in doppelter Größe. Der obere große Fleck ist dicht mit Coremien bedeckt. Das subepidermale Gewebe ist zerstört, wodurch eine Höhlung unter dem Fleck entstanden ist, welche sich durch einen langen, klaffenden Riß nach außen geöffnet hat; *k* das Coremiumköpfchen, von welchem aus später ein Stilbella-Fleck an der anderen Fruchthälfte gebildet wurde. Nach Kohl.

Fig. 15. A Ascus von Mycosphaerella coffeicola. B Ascospore. Nach Cooke.

Ueber den Zusammenhang dieser Pilze sowie über ihre Stellung im System gehen die Meinungen noch sehr auseinander, so daß diese Frage noch einer gründlichen Untersuchung bedarf. Vergleichen wir nun einmal kurz die verschiedenen Meinungen über die obengenannten Pilze, so finden wir zuerst, daß Cooke Stilbella flavida als einen zu den Mucedineen gehörigen Pilze auffaßt. Nach ihm stellt er nur eine Konidienform der Mycosphaerella coffeicola dar. Stilbella wird von Cooke folgenderweise beschrieben: Der Konidienträger setzt sich aus vielen dicht nebeneinanderstehenden dünnen, schwachgelben Hyphen zusammen. An der Spitze sind sie frei voneinander und schnüren kleine, fast hyaline, kaum 1 μ große Sporen ab. Durch die am Ende des Konidienträgers frei ragenden Hyphen und die von ihnen gebildeten Sporen setzt sich ein rundes Köpfchen zusammen.

Spegazzini1), der das von Tonduz ihm zugesandte Material aus Costa-Rica untersuchte, fand außer Stilbella, die er als die alleinige Ursache der Krankheit betrachtete, noch einen Pyrenomycet und die

---

1) l. c.

Pyknidenform eines anderen Pilzes. Dieser Pyrenomycet wurde von Spegazzini irrtümlicherweise als eine noch unbekannte Species angesehen und von ihm Laestadia coffeicola benannt; der Pilz dürfte aber mit Mycosphaerella Cookes identisch sein. Die Pykniden wurden von Spegazzini als zu Phyllosticta coffeicola gehörig bezeichnet.

Stilbella flavida wurde von demselben Forscher als eine imperfekte Mucedinee betrachtet und als Pistillaria flavida Spegazzini beschrieben. Da Spegazzini Sporen dieses Pilzes gefunden hat, gleich Patouillard, Massee und Delacroix und ebensowenig ihre Entstehung an einer Basidie wahrnehmen konnte, war er nicht berechtigt, Stilbella flavida für einen Basidiomyceten zu erklären. Aus diesen Gründen kann seiner Bestimmung des Pilzes nicht viel Bedeutung beigelegt werden.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Kohl seine Untersuchungen über die Krankheit. Den von ihm auf den Blattflecken gefundenen Pilz benannte er Stilbella flavida und reihte ihn unter die Mucedineen ein.

Nach langwierigen vergeblichen Versuchen gelang es Kohl, Stilbella flavida in Reinkultur zu züchten. Die Fruchtkörper sieht er als einen Konidienträgerstand, ein Coremium, an. Nach ihm ist Stilbella ein Hyphomycet, welcher ausschließlich und succedan Konidiensporen produziert.

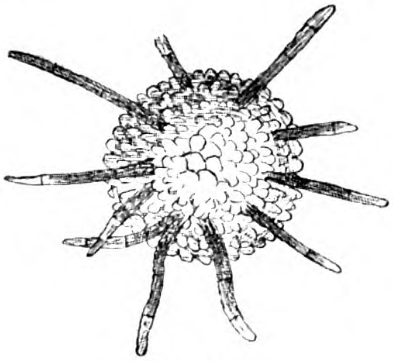


Fig. 16.

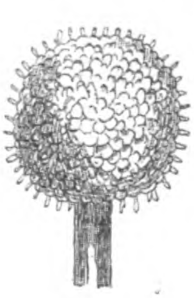


Fig. 17.

Fig. 16. Fruchtkörper eines Pilzes (Phyllosticta?), der sich häufig nachträglich auf Stilbella-Flecken ansiedelt. Nach Kohl.

Fig. 17. Coremiumköpfchen von Stilbella, stark vergrößert. Nach Kohl.

Kohl hat dann weiter die Bildung der Sporen von Stilbella beobachtet. Die einzelligen, farblosen, länglich elliptischen, mitunter etwas gekrümmten Konidien werden von den Coremiumköpfchen bildenden Konidienträgern abgeschnürt. Nach Kohl besitzen „die den peripherischen Teil des Coremiumköpfchens bildenden Konidienträger etwa Flaschenform; ein bauchiger, fast elliptischer unterer Teil treibt einen pollenschlauchartigen Hyphenast nach außen, welcher entweder einfach bleibt oder sich gabelt, um dann eine oder nacheinander einige, immer aber wenige Konidien abzuschnüren.“

Zahlreiche Infektionsversuche Kohls haben bewiesen, daß die Konidien nicht imstande sind, an der Kaffeepflanze eine Infektion hervorzurufen, sondern nur ganze Coremiumköpfchen eine solche bewirken können; er fand bei allen Flecken an der Ursprungsstelle stets ein solches vor. Mit Hilfe der Schleimumhüllung klebt es leicht auf der Oberhaut des Blattes. Durch feuchte Luft wird ein Auswachsen der Konidienträger bewirkt; nach allen Seiten strahlen Hyphen aus, und heften das Köpfchen fest, um dann in das Blattinnere einzudringen. Außer Kaffee kann Stilbella auch andere in der Nähe der Pflanzungen vorkommende Gewächse befallen, welche nach Kohl als Ueberträger der Krankheit im Auge zu behalten sind.

Die Untersuchungen von **Puttemanns** über **Stilbella flavida** haben einige Abweichungen von der **Kohl**schen Beschreibung der Konidienträger ergeben. **Puttemanns** stellte seine Untersuchungen im Jahre 1904 an frischem Material aus Brasilien an. Seine Beobachtungen ergaben, daß das Coremiumköpfchen nicht rund, sondern oben abgeplattet und in der Mitte schwach eingesunken ist. Für die weiteren Einzelheiten der Untersuchungen **Puttemanns** verweise ich auf seine Originalarbeit [1]).

Als **Bekämpfungsmaßregeln** sind Sammeln und Verbrennen der befallenen Bläter und Früchte zu empfehlen. **Kohl** weist noch ausdrücklich darauf hin, daß die Vernichtung der von dem Pilz äußerlich wahrnehmbar befallenen Pflanzenteile nicht genügt, sondern daß man vielmehr alle abgefallenen Blätter, Zweige und Früchte verbrennen soll, da jedes vom Mycel durchwucherte Gewebefragment unter geeigneten Verhältnissen imstande ist, die Infektion gesunder Pflanzenteile zu bewirken.

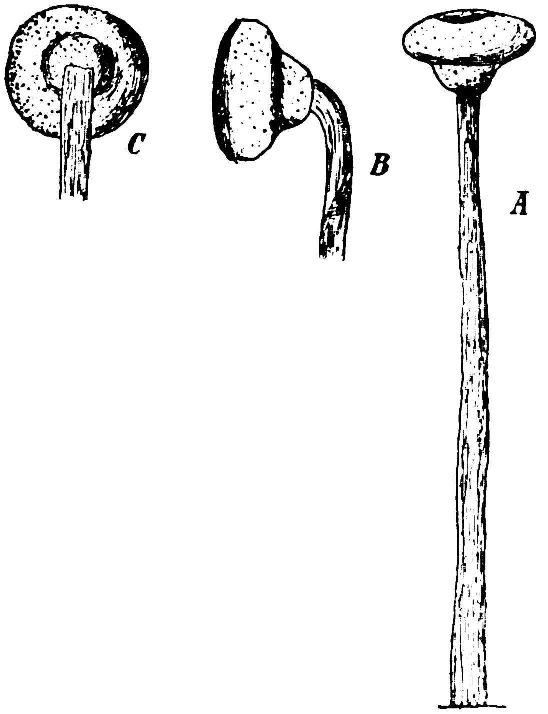


Fig. 18. Coremiumköpfchen nach **Puttemanns**. A normales Köpfchen, B vertrocknetes Köpfchen, C Köpfchen von unten gesehen.

Durch Licht und Luft kann die Krankheit jedenfalls günstig beeinflußt werden, deshalb wäre es zweckmäßig, das Eindringen von Licht und Luft in die Kronen der Bäume zu ermöglichen. Nach **Preuss** [2]) liebt **Stilbella flavida** den Schatten und ruhige feuchte Luft. Das Entfernen der Schattenbäume beschränkt zwar das Wachstum des Pilzes etwas, veranlaßt andererseits aber auch die Kaffeebäume bei der starken Besonnung zur Ueberproduktion; auf ein Jahr mit überreicher Ernte folgt dann ein Jahr völliger Erschöpfung. Nach **Preuss** sollen die Schattenbäume daher nur auf ein erträgliches Maß vermindert werden.

Als direkte Bekämpfungsmittel kämen Bespritzungen mit **Bordeauxbrühe** in Betracht [3]). Von **Kohl** wird noch **Schwefelcalcium** als Bekämpfungsmittel vorgeschlagen, und zwar in folgender Konzentration: 750 g Schwefel und ein etwa gleiches Volumen frisch gelöschter Kalk werden in 10 Liter Wasser unter Umrühren etwa 10—15 Minuten gekocht. Die nach kurzem Absetzenlassen geklärte und abgekühlte Flüssigkeit verdünnt man mit 1000 Liter Wasser. Mit dieser Lösung werden die Pflanzen bespritzt.

Zu einer wirksamen Bekämpfung der Krankheit gehört noch die

---

1) l. c.

2) Kolonialzeitung. Jahrg. XVIII. 1901. p. 473, 474.

3) Ich verweise hier auf das bei der Bekämpfung von **Hemileia** Gesagte. Siehe auch **Preuss** l. c.

sorgfältige Vernichtung der von **Kohl** als Ueberträger bezeichneten Pflanzen[1]).

9. Ramularia (?) Goeldiana Sacc.

Im Staate Rio de Janeiro entdeckte **Göldi**[2]) eine Blattkrankheit, deren Erreger von **Saccardo**[3]) **Ramularia Goeldiana** Sacc. benannt wurde. Die von dieser Krankheit erzeugten Blattflecke stimmen nach der Beschreibung **Göldis** mit denen der **Cercospora** genau überein. **Noack**[4]) fand im Staate Rio de Janeiro überall **Cercospora** auf Kaffeeblättern, nirgends aber einen Blattpilz mit **Ramularia**-Fruktifikation; er nimmt daher an, daß die **Ramularia Goeldiana** Sacc. nichts anderes ist, als **Cercospora coffeicola** Berk. et Cooke, deren reife Sporen abgefallen sind. Auch **Delacroix**[5]) vertritt diese Anschauung. Diese Annahme gewinnt um so mehr an Wahrscheinlichkeit, als auch **Göldi** später selbst die Identität der von **Cercospora** verursachten Flecke mit denen von **Ramularia** hervorgerufenen bestätigen mußte.

Unter den Pilzen deren Schädlichkeit nicht erwiesen ist, sind folgende zu erwähnen:

Coniothyrium Coffeae Zimm.[6]) (**Sphaeropsidales**).

Colletotrichum incarnatum Zimm.[7]) (**Melanconiales**). Beide Pilze fand **Zimmermann** auf Java meist in Begleitung von **Hemileia**.

Der erstgenannte Pilz ist wahrscheinlich nur ein Gelegenheitsparasit, dem keine große Bedeutung beizumessen ist.

Colletotrichum incarnatum kommt zuweilen nach Beobachtungen **Zimmermanns** auf Java auch unabhängig von **Hemileia** auf Blättern und Zweigen von C. **liberica** und C. **arabica** vor. Besonders auf absterbenden Zweigen ist er, wie **Zimmermann**[8]) berichtet, häufig zu beobachten. Ob der Pilz hier das Absterben bewirkt, oder nur ein sekundärer Ansiedler ist, konnte nicht festgestellt werden.

Fusarium coffeicola (**Hyphomycetes**) und **Septoria coffeicola** (**Sphaeropsidales**), wahrscheinlich nur Gelegenheitsparasiten, wurden von P. **Hennings**[9]) aus Kamerun beschrieben. Derselbe Forscher[10]) erwähnt aus Deutsch-Ostafrika **Microthyrium Coffeae**, einen Pilz, der auf Blättern von C. **liberica** unregelmäßige braune Flecke hervorruft.

Aus Zentralamerika endlich beschreibt **Spegazzini**[11]) noch **Clypeolum megalosporum** Speg. (**Perisporiales**) und **Micropeltis Tonduzii** Speg. (**Perisporiales**).

---

[1] **Kohl** hat in seiner Arbeit (l. c.) sowohl ein Verzeichnis als auch Abbildungen dieser Pflanzen gegeben.

[2] l. c.

[3] **Saccardo**, P. A., Sylloge Fungorum. X. p. 554.

[4] l. c. p. 199.

[5] l. c. p. 83.

[6] Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin. Bd. LXVII. 1904. p. 36.

[7] Ebenda und: Bakteriologisches Centralbl. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 143.

[8] Centralbl. f. Bakteriolog. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 143.

[9] Fungi camerunenses: **Englers** Jahrb. Bd. XXII. p. 72 und: Die wichtigsten Pilzkrankheiten der Kulturpflanzen unserer Kolonieen. (Deutsche Kolonialzeitung. 1895. p. 22.)

[10] Schädliche Pilze aus Deutsch-Ostafrika. (Notizbl. d. Kgl. Bot. Gartens Berlin. Bd. III. 1903. No. 30.)

[11] Las enfermedades del cafeto en Costa-Rica. (Revista de la Facultad de Agronomia y Veterinaria de la Plata. 1896. No. 22.)

Spezielle Bekämpfungsmittel für diese Pilze sind kaum notwendig, da sie als echte Parasiten wohl nicht in Frage kommen.

Zimmermann erwähnt aus Java Capnodium javanicum Zimm. (Perisporiales) und Antennaria setosa Zimm. (Perisporiales).

Die Perithecien von Capnodium javanicum haben einen ungefähren Durchmesser von 0,1—0,16 mm; sie sind rund und mit einer Mündung versehen. Von den ovalen vielzelligen Ascosporen sind je 8 in einem Ascus vorhanden; ihre Länge beträgt 40—45 μ, ihre Breite 10—16 μ. Die Konidien sind verschiedengestaltig, entweder sternförmig verzweigt oder einfach ellipsoidisch und in flaschenartigen Pykniden gebildet.

Antennaria setosa Zimm. wurde von Zimmermann häufig auf C. liberica und Hybriden, die durch Lecanium viride oder Pulvinaria Psidii angegriffen waren, in der Nähe der Buitenzorger Kulturgärten, angetroffen. Die Perithecien dieses Pilzes sind bedeutend kleiner als die von Capnodium depressum, und durch lange Borsten auf der Oberseite charakterisiert. Die Asci enthalten 8 vierzellige Sporen.

Mycosphaerella Coffeae Noack (Sphaeriales), konstatierte Noack[1]) auf Kaffeeblättern in Campinas und an anderen Orten des Staates São Paulo, sowie im Staate Rio de Janeiro; aber stets trat der Pilz so sporadisch auf, daß ihm wohl keine praktische Bedeutung beizumessen ist. Der Pilz ist sowohl was Anordnung und Größe der Perithecien, als auch Größe der Asci und Sporen anbelangt, von Sphaerella coffeicola Cooke verschieden.

Ebenfalls aus Brasilien erwähnt Noack noch eine Phyllosticta (Sphaeropsidales); doch hat er diesen Pilz auf Kaffee so selten gefunden, daß er verzichtete, auf das spärliche Material eine Beschreibung zu gründen.

Sowohl Mycosphaerella Coffeae als auch Phyllosticta wies Noack auf den Cercospora-Flecken der Blätter nach. Ob Mycosphaerella Coffeae eine höhere Fruchtform der Cercospora darstellt, hat er nicht konstatieren können.

Delacroix[2]) beobachtete auf den von Cercospora coffeicola hervorgerufenen Blattflecken von C. arabica aus Neu-Caledonien in der Nähe der Fruktifikationsorgane des Pilzes eine noch nicht beschriebene Leptosphaeria-Art, die er L. coffeicola n. sp. (Sphaeriales) nannte. Dieser Pilz ist von der auf Ceylon beobachteten Leptosphaeria coffeigena (Berkeley et Curtis) Saccardo verschieden. Delacroix hat die Perithecien seines Pilzes genau beschrieben; ob sie eine Ascosporenform der Cercospora darstellen, ist fraglich.

Rußtaupilze.

Unter „Rußtau" versteht man einen schwarzen krustenartigen Belag, welchen die sogenannten „Rußtaupilze" auf den Blättern der verschiedensten Pflanzen bilden. Diese Pilze siedeln sich dort an, wo durch Blatt- oder Schildläuse eine klebrige süße Flüssigkeit, der sogenannte Honigtau, abgeschieden wurde. Der Honigtau ist daher wirklich schädlich, weil er epiphytischen und parasitischen Pilzen Gelegenheit zur Ansiedelung auf den von ihm beschmutzten Pflanzen bietet.

---

[1]) l. c. p. 200.

[2]) L'agriculture prat. d. pays chauds. 1907. No. 54. p. 252.

Wenn auch die Rußtaupilze als Parasiten die befallenen Pflanzen nicht schädigen, so werden sie doch auf andere Weise lästig. Es ist leicht nachweisbar, daß besonders die Assimilation durch die oft ziemlich dicke Rußtauschicht beeinträchtigt wird.

Auf Kaffeeblättern kommen für die Bildung von Honigtau folgende Insekten in Frage:

Aphis Coffeae (Blattlaus); Lecanium nigrum, L. Coffeae, L. viride und L. caudatum; Datylopius Adonidum, Pulvinaria Psidii; P. camellicola (sämtlich Schildläuse)[1].

Als Rußtaupilze auf Kaffee sind bekannt geworden.

Triposporium Gardneri, von Berkeley[2]) aus Ceylon beschrieben.

Capnodium Coffeae, weit verbreitet und von Patouillard[3]) zuerst beschrieben.

Capnodium trichostomum von Spegazzini[4]) beschrieben.

Capnodium javanicum und Antennaria setosa, von Zimmermann in Buitenzorg gefunden.

Von Puttemanns[5]) wurden zwei Perisporiaceen auf Kaffeeblättern in São Paulo beobachtet, nämlich: Capnodium brasiliense und Limacinia coffeicola.

Bekämpfung.

Eine direkte Bekämpfung der Rußtaupilze mittels Fungiciden wird wenig Aussicht auf Erfolg haben. Vielmehr müssen hier die Blatt- und Schildläuse bekämpft werden[6]) da sie die Ursache des Rußtaus bilden.

Stamm- und Zweigkrankheiten.

1. Die Krebskrankheit.

(Rostrella Coffeae, Sphaeriaceae).

Die Krebskrankheit des Kaffeebaumes (im Englischen „Canker“ oder „Bark disease“, im Französischen „Chancre“ oder „Maladie de l'écorce“) ist in verschiedenen Ländern beobachtet worden und hat nicht selten große Schäden verursacht. Sauer hat als erster eine Beschreibung der Krankheitssymptome gegeben. In Gardeners Chronicle vom Jahre 1874 und 1877 findet sich eine eingehende Beschreibung der Krankheit, die auch Talmy[7]) in seiner Arbeit über die Krankheiten des Kaffees aufgenommen hat. Nach ihm haben nur die über 6 Jahre alten Pflanzen unter dem Befall zu leiden. Der Krebs soll sowohl in Natal als in Jamaika beobachtet worden sein.

Ueber die Ursache der Erkrankung war man ziemlich im unklaren, bis Zimmermann[8]) sie auf Java genauer untersucht hatte.

Die Untersuchungen Zimmermanns führten zur Auffindung des

---

[1]) Für Einzelheiten siehe nach im Kapitel „Tierische Parasiten“.

[2]) Berkeley, Fungi Ceylan. No. 894.

[3]) Bull. de la Soc. Mycol. de France. T. IX. 1893. p. 150.

[4]) Revista agricola y veterinaria, La Plata. 1896. p. 324.

[5]) Puttemanns, A., Contribution à l'étude de la fumagine des caféiers. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. Vol. XX. 1904. p. 152.)

[6]) Vergl. hierzu das Kapitel Blatt- und Schildläuse.

[7]) Talmy, Notes sur les maladies qui attaquent les caféiers en divers pays. Paris 1878.

[8]) Zimmermann, A., De Kanker (Rostrella ziekte) van Coffea arabica. (Medeedelingen uit 's Lands Plantentuin. Bd. XXXVII. Batavia 1900. p. 24).

Erregers, den er **Rostrella Coffeae** benannte; der von diesem Pilz verursachten Krankheit gab er daher auch die Bezeichnung **Rostrella**-Krankheit.

Aeußere Symptome.

Die ersten Anzeichen einer Erkrankung sind das schlaffe Herunterhängen und spätere Gelbwerden der Blätter. Da die von Nematoden befallenen Bäume ebenfalls ihre Blätter hängen lassen, könnte leicht eine Verwechselung beider Symptome vorkommen, weshalb **Zimmermann** bemerkt, daß die Nematodenkrankheit in der Regel größere Areale befällt, während die **Rostrella**-Krankheit meist nur sporadisch auftritt.

Ein weiteres Symptom des Krebses ist das Braunwerden der Rinde bis aufs Holz. Während die gesunde Rinde grünlich, nach innen mehr weiß aussieht, färbt sich das erkrankte Gewebe dunkelbraun. Die Krebsstellen sind mehr oder weniger groß und können in verschiedener Höhe am Baum auftreten. Nicht selten finden sich die braunen Flecke am unteren Ende des Stammes und gehen von hier aus auf die Wurzeln über. An dickeren Aesten sind Krebsflecke selten, an grünen Zweigen überhaupt nicht beobachtet worden. Ab und zu sind an einem Baume zwei oder mehr Krebsflecke zu finden, die nicht miteinander in Verbindung stehen. Meist kommt aber nur ein solcher Fleck, und zwar am oberen Teil des Stammes, vor, der dann bewirkt, daß die oberhalb dieser Stelle entspringenden Zweige vertrocknen. Findet sich dagegen die kranke Stelle am unteren Teil des Stammes, so bekommen alle Zweige des Baumes ein krankhaftes Aussehen.

Der Erreger.

Die mikroskopische Untersuchung erkrankter Rindenteile zeigt das Vorhandensein von Mycel und Makrokonidien [illegible] Pilzes. Ersteres läßt sich bis auf das Cambium verfolgen. Die br[illegible]gefärbten 11—15 μ großen Makrokonidien sind meist kugelförmig, nicht selten oval oder birnförmig. In einem Kaffeerindendekokt oder auf Zuckeragar (2 Proz. Zucker, 2 Proz. Agar und 0,1 Proz. Zitronensäure) erfolgt schon nach 1 oder 2 Tagen ihre Keimung. Hierbei entwickelt sich ein Keimschlauch, der kettenweise ca. 3 μ breite und ca. 6—15 μ lange, bald aus ihrem Verband zerfallende Konidien bildet, die sogenannten rudimentären Mikrokonidien. Der Keimschlauch der Makrokonidien wächst auch manchmal weiter ohne Ketten von rudimentären Mikrokonidien zu erzeugen; dies ist nur dann der Fall, wenn der Flüssigkeitstropfen, worin die Makrokonidien ausgesät sind, viel Nährstoffe enthält.

Die Mikrokonidien bilden sich unter günstigen Bedingungen innerhalb zwei Tagen auf der Rinde der infizierten Bäume. Ihre Anzahl ist eine so große, daß sie als weißes Pulver auf dem Stamme wahrnehmbar sind. Querschnitte durch erkrankte Rindenteile zeigen, daß die Mikrokonidien

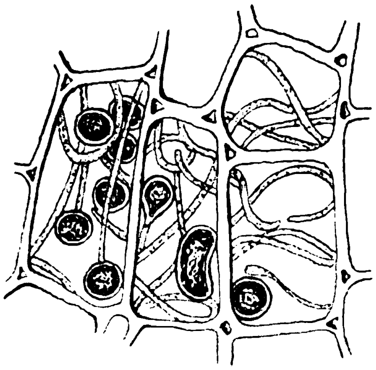


Fig. 19.

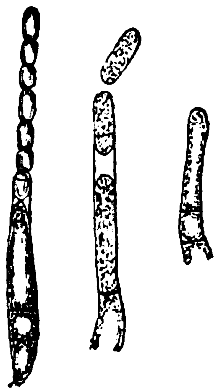


Fig. 20.

Fig. 19. Rindenzellen von **Coffea arabica** mit Makrokonidien und Mycel von **Rostrella Coffeae**. Nach **Zimmermann**.

Fig. 20. Bildung der Mikrokonidien. Nach **Zimmermann**.

an kurzen Seitenästen der Hyphen entstehen. Die Bildung dieser Fortpflanzungsorgane kann man als endogen bezeichnen, d. h. die Mikrokonidien werden in der röhrenförmigen Endigung der Hyphe erzeugt und allmählich durch neue darunter entstehende nach außen geschoben. Auf diese Weise entstehen lange Ketten, deren äußerste Glieder die ältesten sind. Zimmermann berichtet, daß die Zahl der auf diese Weise gebildeten Mikrokonidien eine beträchtliche sein kann. Die zuerst erscheinenden sind lang und schmal, etwa 4—5 μ breit und 20—30 μ, seltener 40 μ lang. Allmählich wurden die darauffolgenden Konidien kleiner und runder, indem sie sich bis auf 9 μ verbreitern und ihre Länge bis 10,5 μ heruntergeht; schließlich werden nur noch fast kugelförmige Mikrokonidien hervorgebracht. Die konidienbildende Hyphe verändert inzwischen ihre Farbe von weiß in braun, während die Mikrokonidien farblos bleiben und sich schon dadurch von den Makrokonidien leicht unterscheiden. Nicht selten können sowohl Makro- als auch Mikrokonidien an derselben Hyphe entstehen, wodurch ihre Zugehörigkeit zu ein und demselben Pilz bewiesen wird.

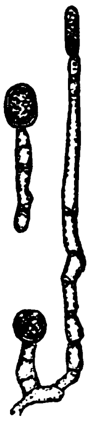


Fig. 21.

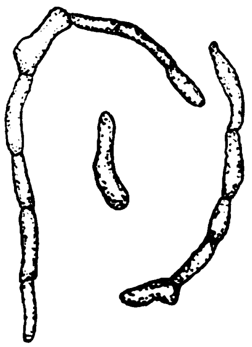


Fig. 22.

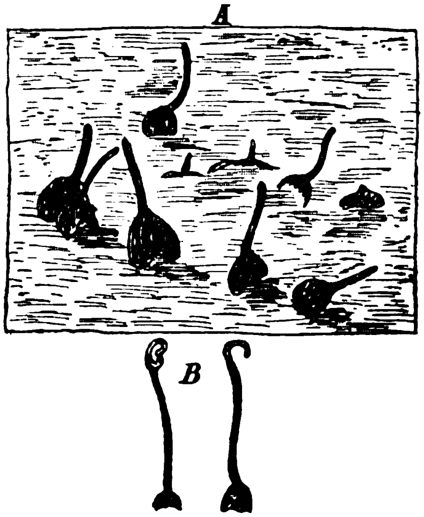


Fig. 23.

Fig. 21. Mycel van Rostrella Coffeae mit Makro- und Mikrokonidien. Nach Zimmermann.

Fig. 22. Keimende Mikrokonidien. Nach Zimmermann.

Fig. 23. A Kaffeerinde mit Perithecien von Rostrella Coffeae. B Perithecien mit Sporenranken. Nach Zimmerann.

Die Keimung der Mikrokonidien erfolgt leicht im hängenden Tropfen; sie schwellen dabei zuerst an ihren beiden Enden etwas an, bilden nicht selten eine Zwischenwand und erzeugen dann ein oder mehrere Keimschläuche. Wachsen Hyphenäste des auf diese Weise entstandenen Mycels in die Luft, so bringen sie kettenförmig angeordnete kleine, bald aus ihrem Verbande zerfallende Konidien hervor, die mit denen, welche die Makrokonidien unter ähnlichen Verhältnissen bilden, identisch sind, also rudimentäre Mikrokonidien darstellen. Daß letztere wirkliche Fortpflanzungsorgane sind, kann man dadurch nachweisen, daß man sie in einen Tropfen Wasser bringt, worin sie leicht keimen und nach einiger Zeit wieder dieselbe Art von Konidien hervorbringen. Die Perithecien finden sich auf oder in der erkrankten Rinde als kleine flaschenähnliche Gebilde. Der untere kugelförmige Teil des Peritheciums hat einen

Durchmesser von etwa 100—160 μ, während der Hals etwa 200—260 μ lang und ca. 20 μ breit ist. Die reifen Fruchtkörper entlassen die Ascosporen in Ranken, wenn die Luft trocken ist, dagegen werden sie bei feuchter Witterung in Klumpen ausgestoßen. Die durchschnittlich 4—6 μ großen Ascosporen haben eine eigentümliche Gestalt; sie sind elliptisch und besitzen an der einen Seite ein flaches membranartiges Gebilde, mit welchem nicht selten 2 Sporen aneinander festkleben. Die Ascosporen keimen unter günstigen Bedingungen innerhalb 24 Stunden.

Ueber die Stellung des Pilzes im System gehen die Ansichten noch auseinander. Zimermann erwähnt, daß Rostrella Coffeae, wenn das System der „natürlichen Pflanzenfamilien" Engler und Prantls als maßgebend betrachtet wird, zu den Plectascineae und zur Familie der Aspergillaceae gehören würde. Nach ihm ist der Pilz mit Microascus Zukal am nächsten verwandt, doch sind die Unterschiede noch so große, daß er sich berechtigt fühlte, eine neue Gattung aufzustellen.

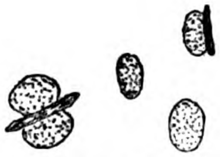


Fig. 24.

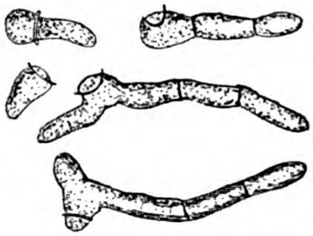


Fig. 25.

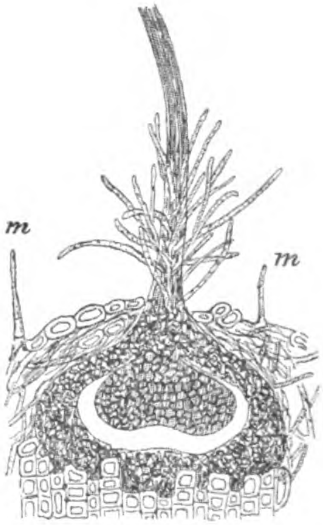


Fig. 26.

Fig. 24. Ascosporen nach Zimmermann.
Fig. 25. Keimende Ascosporen. Nach Zimmermann.
Fig. 26. Reifes Perithecium. Nach Zimmermann.

Delacroix[1] hebt hervor, daß die Beschreibung der Perithecien Zimmermanns lückenhaft ist. In der Tat hat der Forscher weder die Asci, noch die Entwickelungsgeschichte der Ascosporen und die Farbe dieser reifen Fortpflanzungszellen genauer beschrieben.

Infektionsversuche.

Die von Zimmermann auf Java ausgeführten ergaben folgendes Resultat:

1) Daß Rostrella Coffeae den Krebs hervorruft; auf der Oberfläche der infizierten Rinde entstehen die 3 Arten von Fortpflanzungsorganen, Makro-, Mikrokonidien und Ascosporen in Perithecien. Die Makrokonidien werden auch in den Zellen des Rindengewebes gebildet.

2) Rostrella Coffeae ist ein Wundparasit.

3) In sehr feuchter Luft kann sich Rostrella Coffeae auch auf Blättern und grünen Zweigen entwickeln, falls frische Wunden vorhanden sind. Auch hierbei bilden sich die 3 Arten Fortpflanzungszellen. Das Mycel ist nicht imstande, in das Gewebe einzudringen, da unterhalb der

---

[1] Les maladies des caféiers. (L'agriculture pratique des pays chauds. Année VII. 1907. p. 420).

Infektionsstelle bald ein Korkgewebe erzeugt wird. An älteren Aesten unterbleibt die Bildung eines Korkgewebes, so daß das tiefere Eindringen des Pilzes nicht verhindert wird.

4) Bei Coffea liberica kann sich Rostrella Coffeae auch auf Blättern sowie jungen und alten Zweigen ansiedeln, doch ist die Entwickelung des Pilzes auf dieser Wirtspflanze eine viel schwächere und weniger schädliche als auf Coffea arabica. Auf Erythrina lithosperma, Albizzia moluccana, Cedrela serrata entwickelt sich Rostrella Coffeae, wenn frische Wunden vorhanden sind; das Mycel ist aber nicht imstande, in das Gewebe einzudringen, da die Wunde durch Korkbildung bald heilt.

Die große Aehnlichkeit von Rostrella Coffeae mit Thielaviopsis ethaceticus Went (Thielaviopsis paradoxa von Hoehnel, Sporothisma paradoxum de Seynes) veranlaßte Zimmermann, Rostrella Coffeae auf Zuckerrohr zu impfen, um zu sehen, ob der Pilz nicht mit dem Ananaskrankheitserreger des Zuckerrohrs identisch ist. Die Infektionsversuche mißlangen, wonach Zimmermann die Identität in Abrede stellte.

Bekämpfung.

Sind die von Rostrella Coffeae befallenen Bäume in einer Pflanzung nicht zahlreich, so wird das gänzliche Roden und Verbrennen derselben am zweckmäßigsten sein. Bei zahlreichen Bäumen kann man sich auch darauf beschränken, die erkrankten Stellen gründlich auszuschneiden und die Wundflächen mit Teer zu bestreichen. Da der Erreger des Krebses ein Wundparasit ist, sollen Verwundungen des Baumes möglichst vermieden werden; beim Beschneiden sind alle entstandenen Wunden glatt zu schneiden und mit Teer zu bestreichen. Nicht selten werden auch durch Insekten kleine Wunden am Stamme verursacht, weshalb besonders auf diese Schädlinge zu achten ist. Zimmermann teilt mit, daß ein Bestreichen der Stämme mit Bordeauxbrühe die Insekten vom Baume fernhält. Ich halte dieses Mittel zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen für weniger geeignet, dagegen dürfte die Behandlung der Stämme mit Schweinfurter Grün billiger und erfolgreicher sein. Die Bordeauxbrühe ist insofern nicht zu verwerfen, als sie ein vorzügliches Vorbeugungsmittel gegen Pilzinfektionen abgibt. Das Reinigen der Stämme von Epiphyten ist zu empfehlen, da diese geeignete Ansiedelungsorte für Pilze darstellen.

2. Die Corticiumkrankheit.

(Corticium javanicum, Hymenomycetineae).

Auf Java wurde diese Krankheit schon von Raedt van Oldenbarnevelt[1]) und Zimmermann[2]) beschrieben. Sie ist dort im allgemeinen unter dem javanischen Namen „djamoer oepas", d. h. „Giftpilz" bekannt. Der Erreger, Corticium javanicum Zimmermann, kommt nicht allein auf Coffea arabica und C. liberica vor, sondern erzeugt auch auf Thea chinensis, Bixa orellana, Boehmeria nivea, Theobroma Cacao, Ceiba pentandra, Erythroxylon coca u. a.[3]) eine ähnliche Krankheit.

---

1) l. c.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 102—103 und Bd. VIII. 1902. p. 148. Eenige pathologische en physiologische waarnemingen over koffie. (Mededeelingen uit s' Lands Plantentuin. Vol. LXVII. 1904. p. 51.)

3) Vergl. hierzu Zehntner, L., Eenige waarnemingen omtrent de djamoer oepas

Corticium javanicum verursacht das Absterben der Aeste und Zweige der befallenen Pflanzen. Das Hymenium des Pilzes überzieht membranartig den Stamm und die Unterseite der Seitenzweige; es ist fleischfarbig oder gelblich und liegt dem Substrat mit einem lockeren Hyphengeflecht an. Nach oben hin wird letzteres dichter und schließt sich zu der Basidialschicht zusammen. Die Basidien sind keulenförmig, viersporig; die Sterigmen zart, 4—6 μ lang, die Sporen hyalin, birnförmig, mit einem kleinen Ansatz an dem spitzen Ende, 9—12 μ lang und 6—7 μ breit, leicht in Wasser keimend. Der Keimschlauch kann dabei an jeder beliebigen Stelle austreten (Zimmermann).

An den gleichen Zweigen, an denen Corticium javanicum auftritt, findet man meist 0,15—0,3 mm große weiße Kugeln. Sie sind sowohl auf der Ober- und Unterseite der Zweige und besonders auf den Früchten häufig wahrnehmbar. Die kugelförmigen Gebilde stehen mit einem oberflächlichen Mycel in Zusammenhang; sie sind aus dünnwandigen Zellen aufgebaut und vertrocknen, wie Zimmermann beobachtet hat, an den Zweigen, auf denen sie sich entwickeln. Da die Zellen dünnwandig und relativ arm an Nährstoffen sind, stellen sie jedenfalls keine Sklerotien dar. Die Kugeln treten stets vor dem Erscheinen von Corticium auf und sind vielleicht entleerte Fruchtkörper von Necator decretus. Infektionsversuche mit Corticium javanicum gelangen niemals. Sowohl Zimmermann als auch Zehntner haben sich vergebens bemüht, die Krankheit künstlich zu erzeugen, dagegen ist es Zehntner gelungen, den Pilz mit Erfolg auf Kakao zu impfen. Das Mißlingen der Infektionsversuche an Kaffee deutet wahrscheinlich darauf hin, daß bestimmte noch unbekannte Faktoren eine Rolle bei der Infektion spielen.

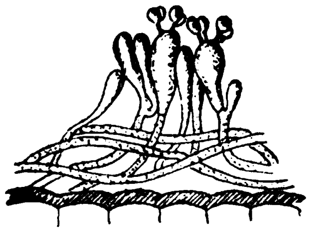


Fig. 27. Hymenium von Corticium javanicum.

Verbreitung.

Die Verbreitung von Corticium javanicum scheint eine größere zu sein, als bis jetzt angenommen wurde. So gelang es mir, in Kamerun den Pilz auf Kaffee festzustellen, ohne daß er dort bedeutende Schädigungen hervorgerufen hatte. Da Corticium leicht auch auf Kakao übergeht, kann den Pflanzern in Kamerun nur angeraten werden, auf den Pilz zu achten, und ihn bei seinem Erscheinen sofort zu bekämpfen.

Bekämpfung.

Abschneiden und Verbrennen der erkrankten Aeste und Zweige ist das beste und bequemste Bekämpfungsmittel. Es empfiehlt sich, das Verbrennen gleich dort vorzunehmen, wo die Zweige abgeschnitten worden sind, da ein längerer Transport durch die Pflanzung zu Neuinfektionen führen kann. Sollte der Pilz auf anderen in den Pflanzungen befindlichen Gewächsen auftreten, so ist ein sofortiges Beseitigen der befallenen Pflanzenteile dringend anzuraten.

3. Necator decretus Massee

(Hyphomycetes).

Wurde zuerst von Ridley 1) auf erkrankten Zweigen wahrgenommen

---

ziekte veroorzaakt door Corticium javanicum Zimm. (Allgemeen proefstation te Salatiga Bull. No. 2.)

1) Ridley, H. N., Coffee diseases. (Agric. Bull. of the Malayan Peninsula. 1897. No. 7. p. 146.)

und nach dem gesammelten Material von Massee[1]) bestimmt. Nach Zimmermann kommt der Pilz als Schädling mit Corticium javanicum auf Coffea arabica und C. liberica, Thea chinensis, Bixa orellana und Erythroxylon coca auf Java vor. Die Zimmermannsche Beschreibung der Sporen weicht, was die Färbung anbetrifft, etwas von der von Massee ab, doch ist die Differenz bei der sonstigen Uebereinstimmung nicht wichtig genug, um für den javanischen Pilz einen neuen Namen zu rechtfertigen.

Necator decretus bildet auf dem Stamme und den Zweigen, leicht mit dem unbewaffneten Auge bemerkbare, rötliche 0,5—1 mm große Fruchtkörper, die anfangs von der Cuticula der Wirtspflanze überdeckt sind, später aber durch Sprengung derselben hervortreten. Die Wand der Fruchtkörper ist pseudoparenchymatisch gestaltet; die aus dem Innern hervortretenden Sporen haben eine unregelmäßige Gestalt und sind etwa 10—20 μ groß. Nach Massee gehört der Pilz zu den Fungi imperfecti, doch sind die Untersuchungen über seine systematische Stellung noch nicht abgeschlossen. Die von Necator decretus befallenen Zweige sterben, nachdem die Rinde geplatzt ist, allmählich ab.

Bekämpfung. Es empfiehlt sich, die befallenen Zweige zu entfernen und zu verbrennen.

4. Blütenzweigdürre

Unter diesem Namen veröffentlichte Delacroix[2]) im Jahre 1904 die Beschreibung einer Krankheit des arabischen Kaffees.

Zweige von dieser Pflanze, die ihm aus Mexiko zugesandt waren, zeigte eine Anzahl vertrockneter unreifer Früchte; die Blätter waren frühzeitig abgefallen.

Der untere Teil der an ihren Spitzen gebräunten, vertrockneten, häufig verkrümmten oder eingerollten Zweige, zeigte eine glänzend weiße Färbung. Auf der Oberfläche wurden feine schwarze Punkte, die Fruchtkörper verschiedener Pilze wahrnehmbar.

Delacroix konnte 3 unbekannte Pilze feststellen: Anthostomella Coffeae, Hendersonia Coffeae und Rhabdospora Coffeae. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß Anthostomella Coffeae und Hendersonia Coffeae 2 Fruchtformen eines Pilzes waren, und Rhabdospora als Saprophyt betrachtet werden muß.

Die Ascosporenform Anthostomella besitzt schwarze, zuerst in das Gewebe eingesenkte, später freistehende Perithecien. Die Asci sind breit und kurz gestielt, etwa 50—57 μ lang und 15—17 μ breit; die feinen granulierten Paraphysen sind etwas länger als die Asci.

Die von einer schleimigen Hülle umgebenen Ascosporen sind häufig birnförmig, an einer Seite etwas abgeplattet, blaß olivgrün gefärbt, und enthalten zwei große Oeltropfen.

Die Pyknidenform Hendersonia besitzt schwarze, fast kegelförmige, in das Gewebe eingesenkte Fruchtkörper. Die anfangs scheidewandlosen, eiförmigen Konidien werden allmählich braun, zylindrisch und erhalten 3 Septen; die so entstehenden Zellen bergen 1—3 Oeltropfen.

Die Konidien sind 11—14 μ lang, 4—5 μ breit und kurz gestielt.

---

1) Kew Bulletin of misc. Inform. 1898. No. 138. p. 119.

2) Bull. de la Soc. mycol. de France. T. XX. 1904. p. 144.

Bekämpfung. Zur Bekämpfung empfiehlt es sich, die erkrankten Zweige abzuschneiden und zu verbrennen. **Delacroix** schlägt Bespritzungen mit Bordeauxbrühe vor.

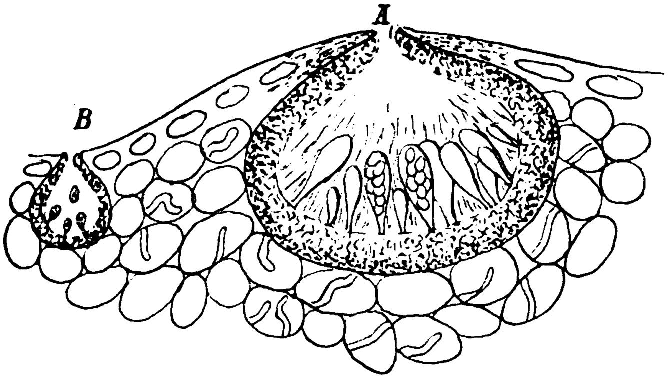


Fig. 28.

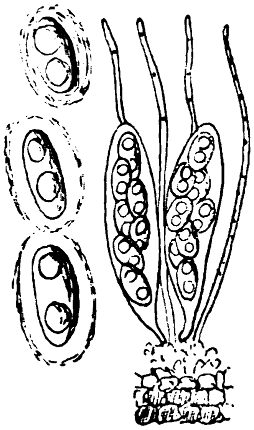


Fig. 29.

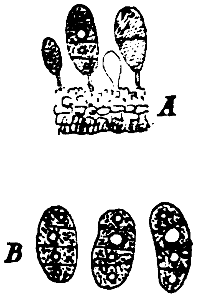


Fig. 30.

Fig. 28. A Perithecium von **Anthostomella Coffeae**. B Pyknide von **Hendersonia Coffeae**. Nach **Delacroix**.

Fig. 29. Asci und Sporen von **Anthostomella Coffeae** nach **Delacroix**.

Fig. 30. A Junge Konidien von **Hendersonia Coffeae**. B Reife Konidien von **Hendersonia Coffeae**. Nach **Delacroix**.

5. Die Fußkrankheit.

Ritzema Bos[1]) berichtete im Jahre 1897 über eine Fußkrankheit von **Coffea liberica** auf Java. Die befallenen jungen Bäume zeigten am Fuße des Stammes eine Schwarzfärbung der Rinde. Die Internodien waren in der Höhe dieser Stelle braun gefärbt, blieben kürzer wie die normalen und verloren ihre Blätter. Die Infektion findet anscheinend am Wurzelhalse statt und greift von hier aus auf die Wurzeln über. Als Ursache dieses Uebels beschrieb **Oudemans**[2]) einen **Pyrenomycet** aus der Gruppe der **Dothideaceae**, den er **Euryachora liberica**[3]) benannte.

Der Pilz erzeugt am Fuße des Stammes schwarze stromaartige Gebilde; diese sind anfangs unter der Rinde angelegt, welche dann infolge des Wachstums der Stromata stellenweise abfällt, wodurch die Stromata bloßgelegt werden. Die Mündungen der im Stroma eingebetteten Fruchtkörper erscheinen als weiße Punkte. Die Fruchtbehälter sind verschieden gestaltet; einzelne enthalten nur zerstreut liegende Sporen, und haben dann den Charakter von Pykniden, während andere Asci mit 8 Ascosporen enthalten und Perithecien darstellen. **Oudemans** hält die erstere Form entschieden für Pykniden; ihre Sporen sind an beiden Enden zugespitzt, 16 μ lang, 5 μ breit und mit einem granulierten Plasma versehen. Die Asci enthalten distich angeordnete 14 μ lange und 6 μ breite Sporen; Paraphysen fehlen.

---

1) **Ritzema Bos**, J., Onderzoek over eenige ziekten in stekken van koffie en Dadap. (Bulletin van het Koloniaal Museum te Haarlem. 1897. p. 33.)

2) **Oudemans**, C. A. J. A., Note sur quelques champignons nouveaux. (Verslagen der koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. 1897. p. 231.)

3) **Lindau** (**Engler-Prantl**, Natürl. Pflanzenfamilien. 1. Teil Abt. I. p. 382) schlägt vor, den Namen **Eryachora** fallen zu lassen und dafür den Gattungsnamen **Dothidella** Speg. anzunehmen, weil unter der **Fuckel**schen Gattung **Euryachora** ganz heterogene Dinge vereinigt sind.

Bekämpfung. Zur Bekämpfung kann nur angeraten werden, die befallenen Pflanzen zu roden und zu verbrennen. Verseuchte Quartiere sind vorerst nicht mit Kaffee zu bepflanzen.

Wurzelkrankheiten.

Die Wurzelkrankheiten des Kaffees sind bis jetzt meist nur unvollständig bekannt geworden. Besonders scheint eine große Verwirrung in der Identifizierung der einzelnen Krankheiten zu herrschen. Das Bestreben einzelner Forscher, für die in einer Gegend aufgetretene Krankheit einen neuen Namen zu wählen, macht es fast unmöglich, zu beurteilen, ob die unter verschiedenen Namen beschriebenen Krankheiten nicht miteinander identisch sind. Hierzu kommt noch der Umstand, daß die vermeintlichen Erreger zwar gefunden, aber in Ermangelung von Fruchtkörpern nicht näher bestimmt werden konnten.

Es würde hier viel zu weit führen, alle die zweifelhaften Wurzelerkrankungen aufzuzählen, die bis jetzt beschrieben worden sind. Nur die hauptsächlichsten sollen hier Berücksichtigung finden.

1. Der braune Wurzelpilz

wurde von Zimmermann[1]) auf Java festgestellt und genauer beschrieben. Die befallenen Wurzeln sind meist von einem harten krustenartigen Pilzbelag bedeckt. Die feineren Wurzeln wurden nicht immer sofort angegriffen. Bei vorgeschrittenen Stadien der Erkrankung finden sich an diesen Organen kleine gelbbraune Anschwellungen, die wahrscheinlich steril gebliebene Fruktifikationsorgane des Pilzes darstellen.

Werden die befallenen Organe quer durchschnitten, so zeigt sich, daß der Pilz auch in das Holz eingedrungen ist, wo er braune Flecke und Streifen erzeugt. Ausgebildete Fruktifikationsorgane des Pilzes sind nie gefunden worden. Dagegen wurden bei Aufbewahrung der erkrankten Wurzeln in feuchter Luft Fruchtkörper eines Pilzes wahrgenommen, den Zimmermann Sporotrichum radicicolum Zimm. benannte. Dieser Pilz hat mit dem eigentlichen Erreger nichts zu tun.

2. Die Spaltkrankheit

wurde von Zimmermann[2]) an Liberia-Kaffeewurzeln auf Java wahrgenommen und untersucht. Das Charakteristikum der Erkrankung liegt darin, daß in den Wurzeln eigentümliche radial verlaufende Spalten auftreten. Es hat sich gezeigt, daß stets die Markstrahlzellen aufgelöst werden.

In der erkrankten Wurzel wurde ein Pilz gefunden, dessen Identifizierung in Ermangelung von Fruchtkörpern unmöglich war.

3. Der schwarze Wurzelpilz.

Zimmermann[3]) hat den Pilz einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Nach ihm kommt der Pilz in West-Java vor, wo er das ganze Wurzelsystem befällt und die Bäume tötet. An den infizierten Organen bemerkt man zwischen den Korkschichten der Rinde teils weiße, teils schwarze Streifen, die von hier aus auch in radialer Richtung in das Holz eindringen; sie bestehen aus dicht miteinander verwebten, die Markstrahlen durchziehenden Mycelien.

---

1) Mededeelingen uit s' Lands Plantentuin. Vol. LXVII. 1904. p. 60.
2) l. c.
3) l. c.

Aus Costa Rica berichtet Tonduz[1]) von einem Wurzelpilz, der das Wurzelsystem von den Seitenwurzeln bis zu den feinsten Haarwurzeln mit feinen weißen Fäden einhüllt, und auch die Erde durchwuchert. Nach Tonduz ist der Pilz nur jungen Anpflanzungen gefährlich. Er vermutet, daß der Parasit identisch ist mit Dematophora necatrix oder Armillaria mellea.

Von Zimmermann[2]) wurden in Deutsch-Ostafrika (Usambara) 2 Wurzelpilze gefunden, die er vermutlich auch schon auf Java beobachtete. Leider war es ihm aber nicht möglich, eine Fruktifikation zu finden, so daß er den Pilz nicht identifizieren konnte.

Durch den einen, am meisten verbreiteten der beiden Pilze, wird zuerst die dicht an der Erdoberfläche gelegene Partie der Wurzeln geschädigt. Der Pilz bildet hier an der Oberfläche teils schwarze, teils gelbbraune Schichten, die häufig knollenartig hervorragen. Im Holz findet man bei vorgeschrittenen Krankheitsstadien schwarze Lamellen.

Die von diesem Parasiten befallenen Bäume sterben meist bald ab. Wird der Wurzelstock ausgegraben, so findet man, daß der Wurzelhals nebst den dickeren Seitenwurzeln von dem Pilz überwachsen sind, während die dünnen Seiten und die Haarwurzeln meist ein noch gesundes Aussehen zeigen.

Der Pilz scheint in Usambara ebenso wie auf Java nur sporadisch vorzukommen.

Wahrscheinlich ist dieser Parasit mit dem von Zimmermann[3]) auf Java beobachteten schwarzen Wurzelpilz identisch.

Den zweiten Pilz hat Zimmermann nur ganz vereinzelt angetroffen. Er scheint, wie der oben beschriebene, ebenfalls in der Nähe des Wurzelhalses aufzutreten, wächst aber von hier aus im Stamme empor. Querschnitte durch befallene Stöcke zeigen von der Rinde aus radial nach innen zu verlaufende Lamellen, die sich im Zentrum vereinigen, und am Rande dunkelbraun, in der Mitte weißlich gefärbt sind.

4. Wurzelkropf.

An Wurzeln von Coffea arabica wurden von Zimmermann[4]) in Usambara starke knollenartige Verdickungen wahrgenommen, die sich von den durch Heterodera veranlaßten dadurch sofort unterscheiden, daß sie nur an älteren Wurzelteilen, namentlich an der Pfahlwurzel älterer Bäume auftreten. Die Pfahlwurzel erscheint dann mit knustartigen Auswüchsen bedeckt, die teils kugelig abgeplattet, teils ziemlich unregelmäßig gestaltet sind, und eine Dicke von 10 mm erreichen können.

Manchmal sind große Teile der Wurzeloberfläche mit knustförmigen, einander berührenden Anschwellungen bedeckt. An den Seitenwurzeln sind die Verdickungen meist mehr kugelförmig, und erreichen bei einer Wurzel von 4 mm Durchmesser nicht selten eine Dicke von 12 mm.

An den zarten Haarwurzeln wurden Verdickungen nie beobachtet.

Die Ursache dieser knollenartigen Anschwellungen ist bis jetzt nicht festgestellt worden. Zimmermann berichtet, daß er bei mikroskopischer Untersuchung keine Sporen von verdächtigen tierischen oder pflanzlichen Parasiten aufgefunden hat.

---

1) Boletim del Instituto Fisico-Geographico de Costa Rica. 1901. p. 7.

2) Berichte über Land- und Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika. Bd. I. 1903. p. 378.

3) Teysmannia. T. XII. p. 305.

4) Berichte über Land- und Forstw. in Deutsch-Ostafrika. Bd. I. 1903. p. 379.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In ihrer anatomischen Struktur stimmen die erkrankten Wurzeln mit den normalen überein.

Durch diese Anschwellungen sind nennenswerte Schädigungen bis jetzt nicht beobachtet worden.

Bekämpfung der Wurzelpilze.

Die Bekämpfungsmethode für alle Wurzelpilze ist die gleiche. Besonderes Augenmerk ist auf Entfernung aller erkrankten Stöcke zu richten, weshalb eine prinzipielle Rodung anzustreben ist. Bleiben die Stöcke stehen, so ist die ganze Entfernung des Baumes zwecklos, denn der Pilz vermag meist nicht allein auf den toten Wurzeln weiterzuleben, sondern kann den noch gesunden benachbarten Bäumen gefährlich werden.

Pilze auf Früchten.

Auf den Früchten des Kaffeebaumes sind zahlreiche Pilze gefunden worden, von denen aber verhältnismäßig selten der Parasitismus nachgewiesen werden konnte. Sind auch die auf Früchten gefundenen Pilze nicht sicher als echte Parasiten erkannt worden, so ist doch die Tatsache im Auge zu behalten, daß sie in beschädigte Früchte eindringen, und deren Absterben und Fäulnis beschleunigen können.

Als Schädlinge sind folgende zu erwähnen:

Hemileia vastatrix Berk. et Br. (Uredinaceae).

Ueber das Auftreten dieses Pilzes auf Früchten wurde bereits früher ausführlich berichtet[1]).

Corticium javanicum Zimm. (Hymenomycetineae).

Dieser Pilz geht nicht selten von den Zweigen auf die Früchte über. Die befallenen Beeren werden allmählich braun und vertrocknen.

Nectria luteopilosa Zimm. (Hypocreales),
auf Coffea liberica von Zimmermann auf Java beobachtet, mit mennigeroten, bis zur Mündung mit goldgelben Haaren bedeckten, etwa 250 μ hohen und 180 μ breiten Perithecien; Sporen länglich, in der Mitte nicht eingeschnürt, an beiden Enden stumpf, 10—12,5 μ lang und 3 μ breit. Konidienlager ebenfalls von goldgelben Haaren bedeckt, Konidien zweizellig, ungefähr ebensogroß wie die Ascosporen.

Nectria fructicola Zimm.
mit ockergelben Perithecien ohne Haare, etwa 180 μ hoch und breit. Sporen in der Mitte deutlich eingeschnürt, 10—12 μ lang und 3,5 μ breit.

Nectria coffeicola Zimm.

Mennigerote Perithecien kahl, bis 400 μ hoch und 300 μ breit. Ascosporen ebensolang wie die der beiden anderen Species, aber bis 5 μ breit. Konidien länglich, 4—6-zellig, 40—50 μ lang und 5 μ breit.

Diplodia coffeicola Zimm. (Sphaeropsidales).

Pykniden flaschenförmig, mit dem Halse ein wenig aus dem Fruchtfleisch steckend. Junge Konidien einzellig hyalin, später zweizellig dunkel bis schwarz, 24 μ lang und 12 μ breit. Dieser Pilz wurde von Zimmermann auf schwarz gewordenen Früchten häufig beobachtet.

Pestalozzia Coffeae Zimm. (Melanconiales).

Obwohl die Pestalozzia-Arten häufig gefährliche Pflanzenparasiten (z. B. auf Thee, Cocos etc.) darstellen, spricht das sporadische Auftreten dieser Species auf Kaffee wahrscheinlich für ihre harmlose Natur.

Konidien 5-zellig, die beiden äußersten Zellen hyalin, die drei mittleren dunkel gefärbt. Die oberste Zelle endet in drei langen feinen Borsten. Konidien etwa 25 μ lang und 5—6 μ breit, Stiel 4 μ lang, Borsten 15—20 μ lang und nur 1 μ breit. Von den drei dunkleren Zellen die untere etwas heller, als die beiden anderen.

---

[1]) Vergl. hierzu Bd. XXI. 1908. No. 4/6. p. 105.

Aspergillus atropurpureus Zimm. (Hyphomycetes).

Auf schwarzen Kaffeefrüchten von Zimmermann gefunden. Wahrscheinlich harmlos.

Algen.

Als Parasiten sind Algen verhältnismäßig selten gefunden worden. In einigen Fällen begnügen sie sich nicht mehr mit einem relativ harmlosen Durchwachsen der Zellen ihres Wirtes, wie es die Endophyten unter ihnen tun, sondern verursachen Absterben der Zellen, und müssen dann als echte Parasiten angesehen werden.

Am weitesten im Parasitismus vorgeschritten dürfte die auf Kaffee beobachtete Cephaleuros virescens Kunze sein.

Cephaleuros virescens Kunze[1]) (Chroolepidae) (Cephaleuros mycoidea Karsten — Mycoidea parasitica Cunningham) ist eine in den Tropen häufig vorkommende parasitische Alge, die außer auf Kaffee auch auf Tee, Croton, Zitronen etc. gefunden wurde. Für die Teepflanze gilt Cephaleuros virescens schon seit langem als gefährlicher Parasit. Schmidle erwähnt[2]) Cephaleuros Henningsii als Parasit der Vanilleblätter und Butler[3]) fand eine Cephaleuros-Art als Schädling von Mangifera indica.

Aeußere Symptome der Erkrankung.

Die Krankheitserscheinung ist am besten an den unreifen Beeren zu verfolgen, da diese eine schwarze Farbe zeigen und frühzeitig vertrocknen, so daß die Samen nicht zur Reife gelangen. Bei Lupenbetrachtung erkennt man auf den Beeren die verschiedensten Entwickelungsstadien der Krankheit. Es sind deutlich runde, orange-rote, behaart erscheinende Flecke wahrzunehmen, deren Anzahl sich schnell vermehrt; die Beere wird braun, runzelig und endlich schwarz und vertrocknet fast vollständig. An erkrankten Bäumen zeigen sich ähnliche Flecke auch auf den Blättern. Das erste Auftreten der Parasiten auf den Blättern geschieht dermaßen, daß sich äußerlich an deren Ober- und Unterfläche

---

[1]) Cunningham, D. D., On Mycoidea parasitica, a new genus of parasitic algae. (Transactions of the Linnean Society. Botany. Ser. II. Vol. I. 1880. p. 301—316.)

On an endophytic alga occurring on the leaves of Limnanthemum indicum, with notes on a peculiarly parasitic variety of Mycoidea. (Scientific Memoirs of Medical Officers of the Army in India. Part III. 1887. p. 30—40.)

Bark blight caused by Cephaleuros virescens Kunze. (Ebenda. Part X. 1897. p. 17—20.)

Ward, Marshall H., On the structure, development and life history of a tropical epiphyllous lichen. (Transactions of the Linnean Soc. Botany. Ser. II. Vol. II. 1883. p. 87—115.)

Karsten, G., Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen. (Annales du jardin botanique de Buitenzorg. Vol. X. 1891. p. 24—25.)

Hariot, P., Note sur le genre Cephaleuros. (Journal de Botanique. T. III. 1889. p. 274, 284.)

Mann, H. H. and Hutchinson, C. M., Cephaleuros virescens Kunze the red rust of tea. (Memoirs of the Dept. of Agric. in India. Vol. I. 1907. No. 6.)

Went, F. A. F. C., Cephaleuros Coffeae, eine neue parasitische Chroolepidee. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 681—687.)

[2]) Hedwigia. Vol. XLI. 1902. p. 159.

[3]) Proceed. of the Board of Agric. for India. 1906.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ein mikroskopisch kleiner schildförmiger, weißlicher oder gelblichroter Diskus bildet[1]). Die Schildchen sind von den auf den glatten, glänzenden Blättern des Liberia-Kaffees häufig vorkommenden Flechten durch ihre gelblichrote Farbe leicht zu unterscheiden. Eine Verwechselung mit den Hemileia-Flecken ist ebenfalls ausgeschlossen, da diese mehr hellorange gefärbt, nicht scharf umschrieben sind und obendrein nur an der Unterseite der Blätter gefunden werden.

Hebt man ein Schildchen ab, so zeigt sich deutlich, daß das Blatt an dieser Stelle dünner ist und etwas gewölbte Ränder besitzt.

Der Erreger.

Die mikroskopische Untersuchung des Algenthallus zeigt ein pseudoparenchymatisches Gewebe. Der Thallus bildet sich nicht allein auf der Oberfläche, sondern auch zwischen Cuticula und Epidermiszellen des Blattes. Die grünen Chromatophoren der Alge werden teilweise durch einen orangegelben Farbstoffkörper, der die Farbe des Schildchen bedingt, bedeckt. Dieser gelbe Farbstoff, das Hämatochrom, löst sich in absolutem Alkohol, während es in verdünntem nicht löslich ist. Das Hämatochrom erfährt weder in kaltem, noch in kochendem Wasser, noch in starker Lauge eine Veränderung; in Schwefelsäure oder Eisenchlorid ändert sich die Farbe in Blauschwarz, in Osmiumsäure in Braun[2]). Die Thallusfäden heben die Cuticula vom Blatt ab, bleiben aber auch teilweise davon bedeckt; sie drängen sich zwischen und unter die Epidermiszellen und verlaufen in das Innere des Blattes und der Beere. Bei der Beere bleiben die Fäden verhältnismäßig kurz, und meist hört ihr Wachtum schon bei der fünften und sechsten Zelle auf, während sie beim Blatte das Palisadenparenchym durchwachsen und in allen Richtungen durch das Schwammparenchym verlaufen. Die Sporangien können so auch durch die Spaltöffnungen an der Unterseite des Blattes hervortreten. Die Algenfäden wachsen intercellular, nie intracellular[3]).

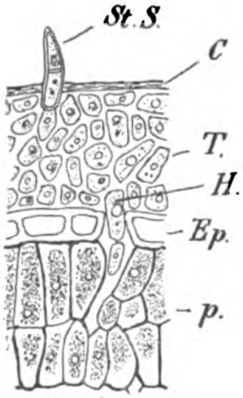


Fig. 31.

Fig. 31. Querschnitt eines befallenen Blattes, *c* Cuticula der Blattoberseite, *ep* obere Epidermis, *p* Palisadenparenchym, *T* Subcuticular-Thallus der Alge, *H* Thallus-Hyphe die Epidermis durchbohrend, *st.s* steriles Haar.

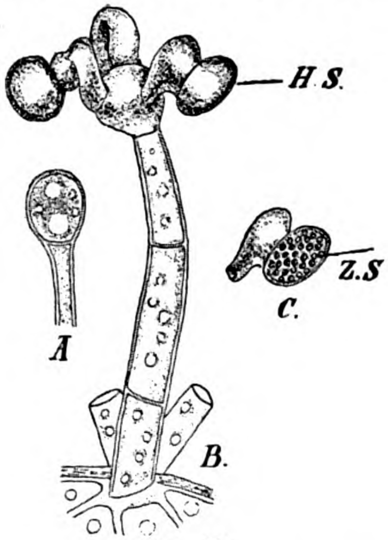


Fig. 32.

Fig. 32. A Oberer Teil eines jungen Sporangiumträgers. B Sporangiumträger mit Hakensporangien *HS.* C Reifes Sporangium mit Zoosporen *ZS.*

Die auf der Außenseite der Beeren und der oberen und unteren Blattepidermis befindlichen haarähnlichen Gebilde sind dickwandig und mehrzellig, von 150—200 μ Länge; an ihrer Spitze befindet sich eine Anzahl gekrümmter Halszellen, deren jede ein Sporangium trägt. Nicht selten sind die Hakensporangien in einem Wirtel angeordnet, indem die

---

[1]) Kunze nannte Cephaleuros hypophyll; auf diesen Irrtum wurde zuerst von Fries (Systema mycologicum. 1829) aufmerksam gemacht.

[2]) Vergl. hierzu die Arbeit Karstens l. c.

[3]) Vergl. Went l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Stielzelle noch weiterwächst. Went[1]) beobachtete in einem Falle einen Sporangienträger, der nachher an seiner Spitze noch einmal Sporangien gebildet hatte; auf diese Weise waren also zwei Wirtel von Halszellen entstanden[2]). Außer den Sporangienträgern findet man noch sterile Haare, die ebenfalls mehrzellig, aber oben glatt in einer spitzen Zelle enden, und gewöhnlich etwas länger als die fertilen Haare sind.

Die Sporangien sind etwa 35 μ groß; ihre Entwickelungsgeschichte wurde zuerst von Cunningham[3]) an Camellia japonica in Calcutta, später auch von Marshall Ward[4]) an Michelia fuscata studiert. Cunningham berichtet, daß sich die Sporangien in großer Anzahl während der Regenzeit bilden. Ihr Inhalt ist grün und teilt sich in eine Anzahl Zoosporen, deren jede zwei lange Wimpern besitzt. Nach den Untersuchungen Wents an Cephaleuros Coffeae sind die Wimpern an einer farblosen Stelle des Protoplasts befestigt; an der gegenüberliegenden Seite findet man Chlorophyllkörper und Hämatochrom, letzteres in sehr wechselnder Menge.

Die Zoosporen entweichen aus dem Sporangium durch eine seitliche Oeffnung und schwimmen im Wasser fort. Nach einer gewissen Zeit verlieren sie ihre Cilien und keimen mit einem farblosen kurzen Keimschlauch. Auf diese Weise entsteht auf dem Blatte ein neuer Thallus, der bald in die Gewebe eindringt.

Außer den Hakensporangien werden im Thallus noch sogenannte Kugelsporangien gefunden.

Es sind dies Gebilde, welche von Cunningham zuerst als Oogonien aufgefaßt wurden und ihn veranlaßten, eine neue Gattung Mycoidea mit dem Artnamen Parasitica aufzustellen. Nach ihm ist diese der Repräsentant einer neuen Gattung. Er glaubte hier einen Organismus vor sich zu haben, der die Mitte zwiscten Algen und Peronosporen hielt. Die ausgezeichneten Untersuchungen Marshall Wards und Hariots haben bewiesen, daß Mycoidea parasitica und Cephaleuros virescens identisch sind; beide Forscher ebenso wie Delacroix konnten die vorhin erwähnten von Cunningham beobachteten Oogonien nicht finden. Vermutlich hat Cunningham Kugelsporangien irrtümlich für Oogonien angesehen.

Die aus den Kugelsporangien entlassenen Zoosporen haben den Charakter von Gameten. Schon Cunningham beobachtete, wie diese Gameten miteinander kopulierten, so daß also hier ein Geschlechtsakt vorliegt. Solch eine Kopulation von Gameten ist auch bei einer nahe verwandten Art, nämlich Trentepohlia, beobachtet worden.

Nicht selten findet man Cephaleuros virescens von einem Pilz begleitet; es entsteht auf diese Weise eine grüne Flechte, die zur Gattung Strigula[5]) gehört und von vielen Forschern auf Blättern in den Tropen beobachtet wurde. So fand Ernst[6]) Strigula complanata auf Coffea arabica in Venezuela. Delacroix und Went konstatierten

---

1) l. p. 683.

2) Delacroix fand eine ähnliche Erscheinung an Liberia-Kaffee; dagegen berichtet er, die wirtelförmige Anordnung der Sporangien häufig an einem Blatte von Persea beobachtet zu haben.

3) l. c.

4) l. c.

5) Von Hariot wurde festgestellt, daß die in Strigula befindliche Alge mit Cephaleuros virescens identisch ist.

6) Ernst, Estudios sobre las deformaciones, enfermedades y enemigos del arbor de café en Venezuela. Caracas 1878.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Flechte, die übrigens keine Schädigungen verursacht, auf Coffea liberica. Die von Went auf Coffea liberica gefundene Cephaleuros Coffeae ist, wie Delacroix schon hervorhebt, vermutlich mit Cephaleuros virescens identisch. Die Abbildungen Wents, sowie seine Beschreibung der Alge stimmen genau mit der von Delacroix über Cephaleuros virescens veröffentlichten überein.

Anatomie der erkrankten Gewebe.

Eingehende Untersuchungen über die anatomischen Veränderungen in den befallenen Blättern hat besonders Went angestellt; ich entnehme seiner Beschreibung folgendes:

Wenn man einen Querschnitt durch eine kranke Blattstelle macht, so sieht man, daß die Algenfäden in den Interzellularen, speziell des Schwammparenchyms wachsen; die Blattzellen sind abgestorben und sehen braun und vertrocknet aus; infolge ihres Austrocknens scheinen sie an einigen Stellen zu zerreißen. Das Eigentümliche des anatomisch veränderten Blattes ist hauptsächlich eine Folge von Vergrößerung der meisten oder wenigstens vieler Blattzellen und von Verdickung der Zellhäute, welche beide Ursachen ein Verschwinden der Intercellularräume hervorrufen. Daneben treten auch lebhafte Zellteilungen auf. Interessant ist die Art und Weise, wie das Kaffeeblatt sich gegen einen Angriff der Alge schützt, indem es um den von der Alge befallenen Teil einen Ring bildet, der aus vollkommen aneinanderschließenden dickwandigen Zellen besteht, wo die Algenfäden nicht hindurch können. Daß der Ring wirklich geschlossen ist, ergibt sich am besten, wenn man eine Reihe von Längsschnitten parallel der Blattfläche durch ein krankes Blatt macht.

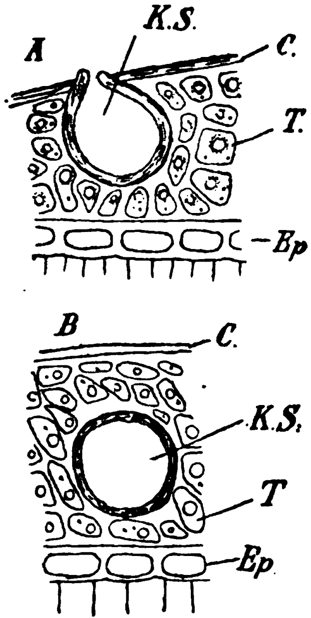


Fig. 33.

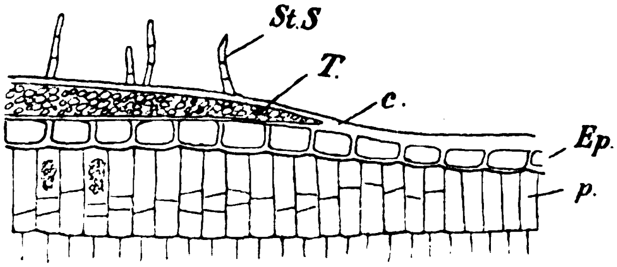


Fig. 34.

Fig. 33. A Geöffnetes Kugelsporangium *KS*. *T* Thallus, *C* Cuticula, *Ep* Epidermis des Blattes. B Kugelsporangium *KS* (übrige Buchstaben wie bei A). Nach Delacroix.

Fig. 34. Querschnitt eines befallenen Blattes. *T* Thallus, *St S* sterile Haare, *C* Cuticula, *Ep* Epidermis, *p* Palisadenparenchym mit lebhaften Teilungen in den Zellen.

Verursachte Schäden.

Cephaleuros virescens ist nur auf Coffea liberica als Parasit gefunden worden. Janse[1]) berichtet, daß er von Sumatra Blätter von Coffea arabica zugeschickt bekommen hat, welche von einer nicht näher bestimmten Alge befallen waren.

Große, durch Cephaleuros virescens verursachte Schädigungen sind im allgemeinen nicht bekannt geworden, da die Alge nur lokal auftritt. Laurent[2]) dagegen fand im Concostaat Cephaleuros virescens

---

1) Janse, J. M., Teysmannia. Bd. I. 1890. p. 313.

2) Laurent, Emile, A propos de l'ombrage des cafiérs. (Revue des cult. colon. No. 118. 1903.)

auf Liberia-Kaffee, und hat festgestellt, daß bedeutende Schädigungen nur an den von starker Sonne beschienenen Pflanzen zu beobachten waren. Wahrscheinlich sind die für direkte Besonnung so empfindlichen Liberia-Kaffeepflanzen durch das starke Licht geschwächt worden, so daß sie den Parasiten leichter zum Opfer fielen.

Bekämpfung. Zur Bekämpfung empfiehlt es sich, die erkrankten Blätter zu sammeln und zu verbrennen. Watt[1]) will mit Bespritzungen mit Kupferkalkbrühe günstige Resultate erzielt haben.

Phanerogamen.

1. Loranthaceae.

Bei weitem die größte Mehrzahl dieser Pflanzen sind halbparasitische Sträucher, welche durch Saugorgane verschiedener Art mit dem Leitungsgewebe ihrer Wirtspflanzen verbunden sind, von diesen einen Teil ihrer Nahrung beziehen, und durch ihren Chlorophyllgehalt zur Assimilation befähigt sind.

Die Scheinbeeren der Loranthaceen enthalten einen klebrigen Stoff (Viscin), der ihr Anhaften an der Rinde der Bäume bewirkt. Als Ueberträger der Samen kommen Vögel in Betracht. Vielfach gehen die Samen unversehrt und von der Viscinschicht umgeben durch den Darmkanal der Vögel und werden auf diese Weise auf andere Bäume abgelegt. Bei der Keimung wächst das negativ heliotropische Stämmchen des Keimlings gegen das Substrat. Das Ende des Keimpflänzchens entwickelt sich zu einer Haftscheibe, aus der dann ein Senker oder Haustorium hervortritt, welcher die Rinde des Wirtsastes durchbohrt und bis zum Holzkörper desselben vordringt.

Von Ernst[2]) werden aus Venezuela als schädlich für Kaffee erwähnt:

Loranthus orinocensis Spr., mit 3-zähligen Blüten in achselständigen Dolden.

L. avicularis Mart., mit 3-zähligen Blüten in achselständigen zusammengesetzten Dolden.

L. parviflorus Sw., mit einzelstehenden Blüten und kleineren Blättern als die beiden vorhergehenden.

Van Delden Laerne[3]) erwähnt L. brasiliensis auf Kaffee in Brasilien.

Auf den großen Sunda-Inseln kommt weiter als Parasit L. pentandrus L. in Betracht. Diese Art kommt außer auf Coffea arabica auch auf Myristica moschata, Tectona grandis, Jambosa, Caryophyllus, Citrus, Artocarpus und vielen anderen Pflanzen vor.

Von anderen Loranthaceen seien noch erwähnt:

Struthanthus marginatus (Desr.) Blume mit eiförmigen oder herzeiförmigen Blättern und in Trauben stehenden Triaden. Diese Art kommt in Brasilien und Paraguay vor, und soll den Kaffeepflanzungen gefährlich werden. Außerdem tritt diese Art noch auf vielen anderen Pflanzen auf.

Phoradendron crassifolium (Pohl) Eichl. (in Brasilien „Erva do passerinho de folha grande" genannt.) Gelblich mit rundlichen Zweigen, länglich-eiförmigen Laubblättern, 4—9-gliedrigen Aehren; in Brasilien, sehr verbreitet.

---

1) Watt, G., The pests and blights of the tea plant. Calcutta 1898.

2) l. c.

3) Rapport sur la culture du caféier. La Haye et Paris 1885. p. 202.

Bekämpfung. Entfernen der Parasiten wird meist genügen, einer weiteren Verbreitung vorzubeugen.

2. Balanophoraceae.

Die Balanophoreen sind fleischige, auf Wurzeln von Holzgewächsen parasitisch lebende, chlorophyllose, gelbliche oder rötliche, entweder stärkereiche oder eine wachsartige Substanz (Balanophorin) enthaltende Pflanzen; meist sind sie mit knolligem Rhizom ausgerüstet, welches häufig mit einer knolligen Anschwellung einer Nährwurze[illegible] a[illegible]fsitzt.

Van Breda de Haan1) erwähnt als Kaffeeschädling auf Sumatra eine Balanophoree, die er in Ermangelung von Blüten nicht bestimmen konnte, vielleicht aber zur Gattung Helosis gehört.

3. Guttiferae.

Zu dieser Familie gehört eine Pflanze, welche von van Delden-Laerne2) als für den Kaffeebaum in Brasilien schädlich bezeichnet wird, nämlich Clusia insignis Martins. Diese Pflanze ist kein eigentlicher Parasit, da sie nicht auf Kosten ihrer Wirtspflanze lebt; sie wird nur dann schädlich, wenn sie mit ihren zahlreichen Luftwurzeln, ähnlich wie viele Feigenarten, starke Bäume umklammert, und schließlich deren Tod herbeiführt.

Tierische Schädlinge3).

Die tierischen Parasiten des Kaffees sind sehr zahlreich und folgenden Gruppen angehörig:

1. Würmer, 2. Schnecken, 3. Spinnentiere, 4. Insekten, 5. Wirbeltiere (Vögel und Säugetiere).

1. Würmer.

Nematoden (Fadenwürmer).

Nematoden sind an den Wurzeln des Kaffeebaumes in den verschiedensten Ländern beobachtet worden.

Ueber das Vorkommen dieser Schädlinge in Brasilien hat zuerst Jobert4) berichtet. In der Provinz Rio de Janeiro entdeckte man an den Wurzeln knotenartige Verdickungen, worin sich Nematoden befanden. Obwohl Jobert keine genaue zoologische Beschreibung dieser Nematoden gegeben hat, glaubte doch Zimmermann annehmen zu dürfen, daß es sich um Heterodera radicicola handelte. Ausführlich über die brasilianische Nematodenkrankheit des Kaffees hat dann im Jahre 1887 Goeldi5) berichtet. Nach ihm ist die Krankheit im Jahre 1870 zuerst im nördlichen Teil der Provinz Rio aufgetreten, und hat sich dort dermaßen ausgebreitet, daß im Jahre 1887 das infizierte Areal bereits $^1/_{23}$ der Provinz einnahm und die Kaffeernte auf ungefähr die Hälfte des normalen Ertrages reduziert wurde. Es wurden deshalb viele Kaffeeplantagen in Zuckerrohrpflanzungen umgewandelt. Die in den Wurzeln

---

1) Van Breda de Haan, Een eigenaardige Koffieparasiet. (Teysmannia. 1903. p. 183—187.)

2) l. c.

3) Da es zu weit führen würde, alle bisher bekannten tierischen Schädlinge hier ausführlich zu behandeln, werde ich mich damit begnügen, die wichtigsten eingehender zu besprechen und die anderen kurz zu erwähnen.

4) Comptes rendus hebdom. T. LXXXVII. 1878. p. 941.

5) Relatorio sobre a molestia do cafeiro no provincia do Rio de Janeiro. (Archivos do Museo Nacional. Vol. VIII. 1887.)

vorhandene Nematode benannte Goeldi Meloidogyne exigua, doch nahmen Soltwedel[1]) und Ritzema Bos[2]) an, daß diese Art mit Heterodera radicicola identisch ist.

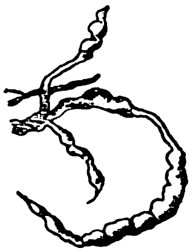


Fig. 35.

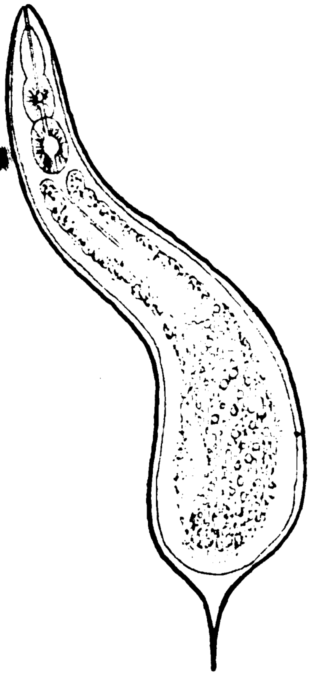


Fig. 36.

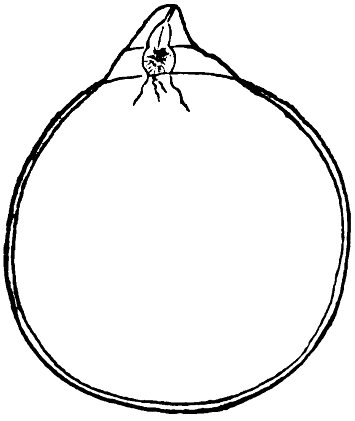


Fig. 37.

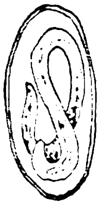


Fig. 38.

Fig. 35. **Wurzelanschwellungen durch Heterodera verursacht. Nach Goeldi.**
Fig. 36. Weibchen von Heterodera radicicola. Nach Goeldi.
Fig. 37. Cyste von Heterodera radicicola. Nach Goeldi.
Fig. 38. Ei von Heterodera radicicola. Nach Goeldi.

In Deutsch-Ostafrika konnte Zimmermann[3]) das Vorkommen von Nematoden zuerst in West-Usambara nachweisen. Er fand dort nämlich auf verschiedenen Plantagen an den feinen Haarwurzeln des arabischen Kaffees kleine hnöllchenartige bis zu 4 mm starke Verdickungen, die äußerlich mit den durch Heterodera radicicola verursachten Anschwellungen eine große Aehnlichkeit hatten. Die spätere mikroskopische Untersuchung der nach Amani mitgenommenen Wurzeln ergab denn auch in der Tat, daß in allen Knöllchen Exemplare von der zu den Nematoden gehörigen Gattung Heterodera anwesend waren. Später hat Zimmermann dieselben Parasiten auch an einigen Stellen von Ost-Usambara in den Kaffeewurzeln angetroffen. Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, daß durch Heterodera den Kaffeepflanzen von Usambara überhaupt kein nennenswerter Schaden zugefügt wird.

Auf Java wurde Heterodera radicicola von Soltwedel[4]) im Jahre 1889 nachgewiesen, doch scheint dieser Parasit dort keine große Verbreitung gehabt zu haben. Zimmermann[5]) teilt mit, daß es ihm nie gelungen ist, auf Java Heterodera radicicola in den Wurzeln des Kaffeebaumes nachzuweisen. Dies war um so merkwürdiger, als er diese Nematode in verschiedenen Unkräutern der Kaffeepflanzungen finden konnte; auch ist es ihm niemals gelungen, Kaffeewurzeln mit Heterodera radicicola erfolgreich zu infizieren.

---

1) Tijdschrift voor Land- en Tuinbouw en Boschcultuur in Nederl. Oost-Indië. Jahrg. 5. 1890. p. 147.

2) Revue des cultures coloniales. T. II. 1898. p. 171.

3) Berichte über Land- und Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika. Bd. I. 1903. p. 372.

4) l. c.

5) De nematoden der koffiewortels. II. (Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin. Vol. XXXVII, 1900.)

Zimmermann berichtet weiter, daß er die Pflanzungen, aus denen **Soltwedel** Material zu seiner Untersuchung bekommen hatte, auf das Vorhandensein von **Heterodera** geprüft hat, ohne jemals irgendwelche Anschwellungen an den früher angeblich von **Heterodera radicicola** befallenen Wurzeln zu entdecken. Die von ihm untersuchten Bäume hatten gut entwickelte Wurzeln und waren durch Nematoden nicht geschädigt worden; dagegen fand sich in einer Höhe von 4500 Fuß, ein Quartier, wo die Bäume starben, und in deren Wurzeln **Zimmermann** **Tylenchus acutocaudatus** gefunden hat. Eine Erklärung für das plötzliche Verschwinden von **Heterodera radicicola** kann **Zimmermann** nicht geben. Vielleicht spielen hier noch unbekannte Faktoren mit, da nicht anzunehmen ist, daß **Soltwedel** sich in der Gattung geirrt hat.

Von **Thierry**[1]) wurde auf der Insel Martinique eine sehr verbreitete Nematodenkrankheit festgestellt, die jedoch **Liberia**-Kaffee nicht befällt[2]). **Delacroix** erhielt später aus Martinique Proben solcher erkrankten Wurzeln, die er zur Untersuchung **Ritzema Bos** zuwandte. Letzterer konnte feststellen, daß es sich hier um **Heterodera radicicola** handelte.

Von **Noack**[3]) wurde eine in Brasilien (São Paulo) im Jahre 1895 aufgetretene Nematodenkrankheit unter dem Namen „Pfahlwurzelfäule" beschrieben. Die Befürchtungen, welche nach den ersten Nachrichten über diese Krankheit auftauchten, haben sich glücklicherweise nicht bestätigt. Die Krankheit hat zwar in verschiedenen Fällen durch Vernichtung beträchtlicher Pflanzungsareale großen Schaden angerichtet, verbreitete sich aber so langsam, daß von einem verheerenden Auftreten nicht die Rede sein konnte.

Die Krankheitserscheinungen sind folgende: Die Blätter an den Spitzen der Zweige fangen an zu erschlaffen und gelb zu werden. Dann schwärzen sich die jungen Triebe und vertrocknen, während gleichzeitig das Laub dürr wird, soweit es nicht schon vorher abgefallen ist. Die Pfahlwurzel ist bei den kranken Bäumen unmittelbar unter der Erdoberfläche eigentümlich tonnenförmig aufgetrieben. Die Rinde zeigt an dieser Stelle zahlreiche unregelmäßige Längs- und Querrisse und besitzt ein schon mit unbewaffnetem Auge wahrnehmbares schwammiges Gefüge. Als Krankheitserreger hat **Noack** eine Nematode **Aphelenchus Coffeae** nachgewiesen.

Von **Zimmermann** wurde auf Java ebenfalls in Kaffeewurzeln eine zu der Gattung **Aphelenchus** gehörige Nematodenart gefunden, die er auch **Aphelenchus Coffeae** benannte[4]). Ob diese Art mit der von **Noack** gefundenen identisch ist, bleibt fraglich, da **Noack** eine wissenschaftliche Beschreibung seiner Art nicht gegeben hat. **Ritzema Bos**, der erkrankte Wurzeln aus São Paulo erhielt, erklärt, daß die Symptome der Erkrankung ganz andere sind, als diejenigen von **Heterodera radicicola** hervorgerufenen. Die Wurzeln bilden keine Knoten, auch glaubt **Ritzema Bos**, daß diese Krankheit für den Kaffeebaum viel gefährlicher ist, als die durch Heterodera verursachte Schädigung[1]). Auf Java verursacht Aphelenchus Coffeae keine nennenswerten Schädigungen, auch kommt diese Art immer in Wurzeln vor, worin sich bereits Tylenchus Coffeae und Tylenchus acutocaudatus angesiedelt haben.

---

[1]) **Thierry, A. J.**, Notes sur le greffage ... et la maladie vermiculaire du caféier. Saint-Pierre de la Martinique 1899.

[2]) Dagegen berichtet **Goeldi**, daß in Brasilien gerade **Liberia**-Kaffee von **Heterodera** befallen wird. Diese Frage ist sehr der Aufklärung bedürftig, da **Thierry** das Pfropfen von **C. arabica** auf **C. liberica** für ein vorzügliches Vorbeugungsmittel gegen die Erkrankung hält.

[3]) **Noack, F.**, Die Pfahlwurzelfäule des Kaffees, eine Nematodenkrankheit. (Zeitschr. f. Pfanzenkrankheiten. Bd. VIII.)

[4]) Vergl. hierzu: Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin. Vol. XXVII. 1898. p. 44.

Erstgenannte Tylenchus-Art hält Zimmermann für die Hauptursache der Nematodenerkrankungen des [illegible]ffees auf Java, Tylenchus acutocaudatus kommt [illegible]gegen seltener vor[2]). Die von Zimmermann ausgeführten Infektionsversuche mit Tylenchus Coffeae haben gezeigt, daß 5 $^1/_2$ Monate nach der Infektion 95 Proz. Coffea arabica und 59 Proz. C. liberica befallen waren. Es scheint, als ob die letztere Art weniger dem Befall anheimfällt.

Zur Bekämpfung empfiehlt Zimmermann:

1) Verseuchte Quartiere sind nicht wieder mit Kaffee zu bepflanzen.

2) Infizierte Quartiere sind so wenig wie möglich zu betreten oder ist Bodenbearbeitung darin auszuführen, da hierdurch leicht die Krankheit nach anderen Quartieren verschleppt werden kann.

3) Die erkrankten Pflanzen sind zu verbrennen.

Unter den von Zimmermann gefundenen Nematoden in den Wurzeln seien noch folgende erwähnt:

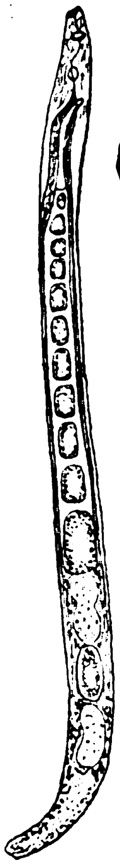


Fig. 40.

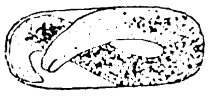


Fig. 39.

Fig. 39. Ei von Tylenchus Coffeae. Nach Zimmermann.

Fig. 40. Weibchen von Tylenchus Coffeae. Nach Zimmmermann.

Cephalobus brevicaudatus, C. longicaudatus, Rhabditis bicornis, Dorylaimus javanicus[3]).

Enchytreiden.

Von Zimmermann[4]) wurden auf Java in verwesten Wurzeln Enchytreiden gefunden, deren parasitäre Natur fraglich ist. Infektionsversuche mißlangen.

2. Gasteropodes, Schnecken.

In Neu-Caledonien[5]) sollen Schnecken den dortigen Kaffeekulturen beträchtliche Schäden zugefügt haben. Besonders zur heißen Zeit und in stark beschatteten Gärten scheinen sie in großer Anzahl vorzukommen. Die Schädigung besteht in einer Zerstörung der Rinde, wodurch junge Pflanzen bald absterben. Aeltere Bäume haben unter dem Befall nicht zu leiden, wahrscheinlich weil die Rinde kräftiger ist. Mariot[6]), welcher die Frage der Bekämpfung besonders studiert hat, empfiehlt des Nachts in der Pflanzung Haufen Bananenblätter niederzulegen. Am anderen Morgen findet man in diesen Haufen zahlreiche Schnecken, die mit ungelöschtem Kalk getötet werden können.

---

[1] Nach Delacroix zitiert: L'agriculture pratique des pays chauds. Année VIII. 1908. p. 502.

[2] Vergl. hierzu: Verslag von het I Koffie-Congres Malang 1898. p. 29.

[3] Für eingehende Beschreibung dieser Arten vgl. Zimmermann: De Nematoden der koffiewortels (Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin. Vol. XXVII. 1898).

[4] Over de Enchytraeiden en haar voorkomen in de koffiewortels. (Teysmannia. 1898. p. 182.)

[5] Perret, Notice pratique sur la culture du caféier en Nouvelle-Caledonie. Nouméa 1895.

[6] Mariot, A., Les ennemis du caféier en Nouvelle-Caledonie. (Revue des cultures coloniales. 1899. p. 314.)

3. Arachnoidea, Spinnentiere,

Acarina, Milben.

Von Nietner[1]) wurde eine Milbe unter dem Namen Acarus Coffeae beschrieben, die er in Ceylon auf den Blättern fand. Green[2]) berichtet aber, daß sie mit Tetranychus bioculatus, einer in Assam in den Teepflanzungen als „red spider“ bekannten und von Wood-Mason[3]) ausführlich beschriebenen Milbe identisch ist[4]).

Sie wurde später von Koningsberger[5]) auf Java festgestellt.

Goeldi[6]) fand in Brasilien auf den Blättern häufig Gallen, die er einer Acarine zuschrieb. Diese Gallen waren an ihrer Spitze mit einer Oeffnung versehen und enthielten Eier eines zu der Gattung Tetranychus gehörigen Insekts. Außerdem wurden von Noack[7]) in Brasilien, und von Zimmermann[8]) auf Java nicht weiter bestimmte Milben in Wurzeln aufgefunden, die durch Nematoden getötet waren.

Die von Tetranychus bioculatus[9]) geschädigten Blätter sind daran zu erkennen, daß sie auf der Oberseite kleine, gelbbraune Flecke zeigen, die allmählich zu großen Flecken zusammenfließen. Auf diesen finden sich kleine weiße Gebilde, teils Eihäute, teils bei der Häutung abgeworfene Hautfetzen der Milben. Auf der Oberseite der Blätter zeigen sich Larven und ausgebildete Milben, wovon erstere 6, letztere 8 Beine besitzen. Die Weibchen haben eine plumpe, eiförmige, die Männchen eine nach hinten spitz auslaufende Körpergestalt.

Der größte Teil des Körpers ist dunkel gefärbt, während der Vorderteil, und bei den Männchen auch der hintere Teil eine hellrote Farbe besitzen. Die ausgebildeten Weibchen sind nach Koningsberger 0,5 mm lang.

Die Eier werden auf die Oberseite des Blattes gelegt und besitzen eine eigentümliche Gestalt. Sie sind, mit einer Lupe von oben betrachtet, als hellrote Punkte zu erkennen, ungefähr kreisförmig und im Durchmesser etwa 0,13 mm groß. Im Profil erscheinen sie vorn abgeplattet und etwa 0,9 mm hoch.

Auf Java sind durch diese Milben anscheinend große Schädigungen hervorgerufen worden.

Bekämpfung. Bei geringem Befall empfiehlt es sich, die befallenen Blätter abzuschneiden und zu verbrennen. Ist der Befall dagegen groß, so soll Bestäubung mit Schwefel, in den Morgenstunden vorgenommen, nützlich sein.

(Fortsetzung folgt.)

---

1) The coffee tree and its enemies. 2. edit. 1880. p. 19.

2) Insect pests of the tea plant. Colombo 1890. p. 30.

3) Report on the tea-mite and tea-bug of Assam. London 1884.

4) Ich entnehme diese Literaturangaben dem vorzüglichen Werke Koningsbergers und Zimmermanns: De dierlijke vijanden der koffiekultuur op Java T. II. (Mededeelingen uit ’s Lands Plantentuin. Vol. XLIV. 1901.)

5) l. c.

6) l. c. p. 77.

7) Noack, F., Die Pfahlwurzelfäule, eine Nematodenkrankheit. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1898. p. 137.)

8) Zimmermann, De nematoden der koffiewortels. (Mededeelingen uit ’s Lands Plantentuin. Vol. XXVII. 1898.)

9) Vergl. hierzu die ausführliche Beschreibung von Koningsberger (l. c. p. 3).

Referate.

Jordan, Edwin O., A textbook of general bacteriology. 557 p. 163 Abbildungen. Philadelphia (Saunders Co.) 1908.

Jordans Lehrbuch der allgemeinen Bakteriologie ist in erster Linie für den Studenten der Medizin bestimmt. Wenn Verf. auch alle anderen Kapitel, wie die technische und allgemeine Mykologie, sorgfältigst behandelt, so geht doch der Hauptzweck dieses Lehrbuches unzweideutig aus der recht verschiedenen Seitenzahl der einzelnen Kapitel hervor. Es entfallen auf Methodik 52 Seiten, auf Morphologie, Physiologie und Systematik zusammen 57 Seiten, auf pathogene Bakterien 307 Seiten. Dann folgen in kurzen Abschnitten die pathogenen Hefen, Fadenpilze und Protozoen. Hieran schließt sich die technische Mykologie: Milchbakterien mit 20 Seiten, Stickstoffbakterien mit 15 Seiten, Bakterien in Luft, Boden und Wasser mit 15 Seiten. Kurz werden noch andere technische Zweige der Bakteriologie erwähnt. Den Schluß bildet ein kleines Kapitel über Pflanzenkrankheiten.

Es war, wie auch aus dem Vorwort hervorgeht, Verf. Absicht, den Studenten der Medizin auf die weitere Bedeutung der Bakteriologie in der Technik und als allgemeines biologisches Studium aufmerksam zu machen.

Das Buch ist dem Bildungsgrade des Studenten angepaßt, auch für den Nichtmediziner verständlich, aber durchaus nicht populär geschrieben. Eine große Anzahl meistens guter Illustrationen erleichtert das Verständnis des Textes. Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Jickeli, Carl F., Zellteilung, Encystierung und Befruchtung als periodische Ausscheidungen. (Verhandl. u. Mitteil. d. siebenbürgischen Vereins für Naturwissensch. zu Hermannstadt. Bd. LVII. 1907. Hermannstadt 1908. p. 3—25.)

Verf. stellt folgende „Sätze“ auf:

1) Die gleichen Einflüsse, welche nach unserer Auffassung den Stoffzerfall steigern und die Notwendigkeit, solchen zerfallenen Stoff auszuscheiden, zur Zellbildung führen, bedingen auch jenen zweifellosen Ausscheidungsprozeß, den man als Encystierung bezeichnet.

2) Zellteilung und Encystierung sind periodische Ausscheidungsprozesse, welche, wie sie selbst zur Ergänzung anderer unvollkommen erfolgender Ausscheidungsvorgänge notwendig waren, selbst auch nur Unvollkommenes leisten und deshalb eine zeitweilige Steigerung erfahren müssen.

3) Die Befruchtung erscheint als eine periodische Ausscheidung, weil die Ausscheidungsvorgänge Zellteilung oder Cystenbildung sich als Folge derselben ergeben, weil die Befruchtungsbedürftigkeit durch die gleichen Einflüsse gesteigert wird, welche Zellteilung und Encystierung auslösten, weil dieselbe überflüssig wird, wenn durch andere Einflüsse jene Ausscheidungsvorgänge in Gang gebracht werden, welche sonst Folgen der Gametenverbindung sind. Die Notwendigkeit einer periodischen Steigerung der mit der Befruchtung verbundenen Vorgänge zwingt zu der Annahme, daß auch dieser Stoffwechselvorgang Unvollkommenes leistet.

Es sind daher Zellteilung, Encystierung und Befruchtung periodische Ausscheidungsprozesse, welche nötig werden, weil andere bekannte solche Prozesse unvollkommen erfolgen.

Die Beweise für diese 3 Sätze ergeben sich, wie Verf. dartut, aus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

diversen Schriften hervorragender Forscher. Zu beantworten wären noch die Fragen nach dem Unterschiede dieser drei Formen der periodischen Ausscheidung und die Frage, warum die Befruchtung die Vereinigung von zwei Individuen nötig macht. Matouschek (Wien).

Reed, H. S., The value of certain nutrition elements to the plant cell. (Annuals of Botany. 1907.)

Basidiobolus ranarum, Phanerogamenwurzeln, Farnprothallien, Moosprotonemata, Fadenalgen wurden in Nährlösungen, denen bestimmte Nährsalze fehlten, herangezogen zum genauen Vergleiche mit den in normaler Lösung gezüchteten.

Die erzielten Resultate sind:

Kalium ist für das Gedeihen der Moose von größter Wichtigkeit. Im frühesten Entwickelungsstadium kann Natrium das Kalium teilweise vertreten.

Kalium ist erforderlich zur Stärkebildung und für die Mitose. Ohne Kalium ist eine gewisse Streckung der Zellen möglich.

Phosphat ist unentbehrlicher als sonstige Elemente. Zellorgane sind bei Mangel an Phosphor lebensunfähig. Phosphat ist ist erforderlich zur Umwandlung von Stärke in lösliche Kohlehydrate. Mitotische Teilung ohne Phosphor ist unmöglich.

Calcium ist unentbehrlich für chlorophyllhaltige Zellorgane. Es wirkt den giftigen Einflüssen des Magnesiums entgegen. In calciumfreien Lösungen bilden Prothallien von Gymnogramme viele Antheridien, aber keine Archegonien. Ohne Calcium ist Bildung von Cellulose nicht möglich.

Magnesium ist wichtig für gutes Gedeihen der Chloroplasten. Vaucheria bildet ohne Magnesium kein Oel. Ein Ueberschuß von Magnesium über Phosphor war der Keimbildung bei Aspergillus niger schädlich. E. Winkelmann (Halle a. S.).

Schrammen, F. R., Ueber das Reizleben der Einzeller. (Verhandl. des naturhistorischen Vereins der preußischen Rheinlande und Westfalens. Jahrg. XLVI. 1907. 2. Hälfte. Bonn 1908. p. 227—246.)

Verf. beweist zuerst, daß Sinnesorgane nichts für das Seelenleben beweisen; sie stellen nur die Empfangsstätte für physikalische und chemische Reize dar. Es ist daher besser, die sogenannten Sinneswerkzeuge bei den unbeseelten Lebewesen als Reizwerkzeuge zu bezeichnen; ja auch bei den beseelten Organismen würde diese Bezeichnung für die Organe, die nur Reize empfangen, welche nicht bewußt werden, z. B. für die Iris, die richtige sein. — Uebergehend auf das Werk R. H. Francés, „Streifzüge im Wassertropfen“, werden einzelne Stellen dieser Schrift erläutert und kritisiert. Francé gibt selbst zu, daß „sich vielleicht ein großer Teil ihres (der Einzeller) Lebens sicher unter der Bewußtseinsschwelle abspielt“. Verf. geht einen Schritt weiter: Das ganze Leben der Einzelle spielt sich ganz und gar unter der Bewußtseinsschwelle ab. Bewußtes Leben, Seelenleben, kommt diesen Urwesen nicht zu, da unter ihren Lebensäußerungen keine einzige vorhanden ist, die sich nicht durch Reizbarkeit allein erklären ließe. Das Seelenleben entwickelte sich langsam aus dem Reizleben, es hielt Schritt in seiner Entwickelung mit dem Ausbaue des Gehirns als seiner Grundlage.

Matouschek (Wien).

Barber, Marshall A., On heredity in certain micro-organisms. (Kansas University Science Bulletin. Vol. IV. 1907. No. 3.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Vorliegende Arbeit Barbers zeichnet sich durch große Originalität aus und zwar in zweifacher Weise. Während andere bakteriologische Arbeiten, die die Variabilität der Mikroorganismen behandeln die Eventualität der Selektion nicht ausschalteten, weil sie beim Uebertragen einer variierenden Kultur auf ein neues Nährmedium zahlreiche Zellen überimpften, wählte Barber morphologisch variierende Einzelzellen unter dem Mikroskop aus, die er dann zur Fortzüchtung benutzte. Er begegnete daher auf diese Weise dem früher z. B. von Hansen erhobenen Einwand, daß eine durch äußere Bedingungen hervorgerufene Begünstigung einzelne Zellen überleben ließ, deren Eigentümlichkeit dann in der neuen Kultur auftrat. Bei Barber wurden die Elternzellen unter denselben Bedingungen wie die Deszendenz kultiviert. Für das Gelingen dieser Versuche mußte eine besondere Methode des Einfangens der Einzelzellen geschaffen werden, die Einfachheit mit Sicherheit verband, worin die zweite Originalität der Arbeit liegt. Vielleicht ist die Methode Barbers in noch höherem Grade, als der Autor annimmt, dazu bestimmt, von den Einzelzellen ausgehend zu Reinkulturen solcher Mikroorganismen, wie z. B. mancher Flagellaten, Algen und Diatomeen zu kommen, die wegen ihrer Empfindlichkeit nur schwer in Anhäufungskulturen zu gewinnen sind und die sich deshalb von Bakterien und Schimmelpilzen nur schwer trennen lassen.

I. Während es bei der Auswahl abnorm großer Zellen von Saccharomyces anomalus nicht gelang, eine durch Zellgröße sich auszeichnende Rasse zu erzielen, glückte das Experiment um so besser bei außergewöhnlich langgestreckten Zellen. Diese Rasse blieb auf verschiedenen Nährmedien unter sehr verschiedenen Temperaturbedingungen und bei verschiedenen Sauerstoffspannungen konstant; ein neuer Beweis, daß äußere Bedingungen nicht die Ursache der Variation waren, so daß man hier mit gewissem Recht von Mutationen im Sinne de Vries' sprechen kann, da die Ursache der Veränderung in einer Disposition des Keimplasmas gelegen haben muß. Während das Verhältnis von Länge zu Breite (gemessen an 212 Zellen) bei der ursprünglichen Kultur 1,190 : 1,000 war, ergab sich bei der neuen Rasse (gemessen an 272 Zellen) ein Verhältnis von 1,441 : 1,000.

Die neue Rasse war durch ein geringeres Sporenbildungsvermögen ausgezeichnet als die Originalkultur; es gelang auch nicht, die sich bildenden Sporen dauernd weiterzuzüchten. Immerhin zeichneten sich auch die wenigen Generationen, die, von Sporen ausgehend, herangezogen wurden, durch die Formveränderung der Mutterzellen aus.

Der Versuch, die Langstreckung der Zellen durch die Auswahl noch abnormerer Formen, z. B. solcher, die 5mal so lang als breit waren, noch weiter zu treiben, mißlang. Im Gegensatz dazu steht der Beweis der Konstanz der neuen Rasse, der dadurch geliefert wurde, daß es durch die Selektion sphärischer Zellen aus ihr nicht gelang wieder zur Form der Originalkultur zurückzukehren.

Das Auftreten der langgestreckten Zellen in der Originalkultur, von denen ausgehend man zu einer neuen Rasse kommen kann, ist ein seltenes. Im hängenden Tropfen wurden in einzelnen Fällen eine Zelle auf 5000, in anderen auf 46000 normale Zellen gefunden. Bisweilen gaben lange Serien, die Hunderttausende von Zellen entwickelten, keine einzige solche Variation. Die Mühe, welche auf die Arbeit verwendet wurde, kann an der Tatsache abgeschätzt werden, daß beim Durchsuchen Tausender von hängenden Tropfen einer Rose Hefe nur Zellen von ab-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

normer Form gefunden wurden, die wieder zum ursprünglichen Typus zurückkehrten.

In physiologischer Beziehung besitzt die neue Form der Anomalus-Hefe eine etwas gesteigerte Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen und Hitze, eine etwas größere Zuckervergärkraft und eine etwas schwächere Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen. Die Gärkraftsbestimmungen wurden mit Hilfe eines empfehlenswerten volumetrischen Apparates ausgeführt, über dessen Einzelheit man das Original nachsehen möge.

Bedeutungsvoll ist die Tatsache, daß die bei der gemeinsamen Aussaat eine Zelle der Originalkulturen und eine Zelle der neuen Rasse herangewachsene Kultur nach achtmaligem Ueberimpfen auf neues Nährmedium innerhalb von 23 Tagen eine Verdrängung der alten Art durch die neue auftreten ließ. Dadurch wird ein experimenteller Beweis für die Entwickelung einer mit neuer Eigentümlichkeit ausgestatteten Kultur durch den Kampf ums Dasein mit Individuen der eigenen Art, geliefert.

II. Die mit Bac. coli communis gewonnenen Resultate sind ebenso bemerkenswert. Auch hier wurde eine Rasse, die sich durch Langstreckung der Zellen auszeichnete, herangezüchtet. Bei der Isolierung von 140 langgestreckten Individuen gab aber nur eins eine neue beständige Rasse, alle anderen schlugen zurück. Aus einer anderen aus Faeces isolierten Kultur gelang es nach 50 Isolierungen die neue Form zu erhalten. Im allgemeinen zeigen die Mutanten eine Tendenz verminderter Wachstumsgeschwindigkeit, die aber nach anfänglicher Entwickelung wieder verschwindet. Eine neue Rasse zeichnete sich durch fast völlig konstanten Verlust der Beweglichkeit aus, eine andere vergärte Zucker in verstärktem Maße und war durch einen teilweisen Verlust der Empfindlichkeit gegen Agglutination ausgezeichnet. Alle drei isolierten neuen Rassen bildeten längere Filamente als die Originalkulturen. Alle die genannten Veränderungen, vor allem auch der Verlust der Beweglichkeit, der in der Colon-Gruppe bisweilen dem Einfluß des Mediums zuzuschreiben ist, traten ohne solche Gründe ganz unbeeinflußt auf und erhielten sich auch hier unter den verschiedensten Kulturbedingungen.

Auch vom Typhusbacillus konnte eine Rasse langgestreckter Zellen isoliert werden, während der Versuch, aus dem Bac. megatherium eine sporenlose Rasse heranzuzüchten, nur einmal und dann nie wieder gelang.

Zusammengefaßt beweisen also die im vorstehenden geschilderten Resultate, daß es gelingt, auf Grund der natürlichen Variabilität der Mikroorganismen neue und konstante Rassen zu erhalten, deren Auftreten als eine gewisse Stütze für die Mutationstheorie angesehen werden kann.

Die Methode der Isolierung einzelner Zellen ist im Detail in der Originalarbeit nachzulesen. Die Kultur wird im hängenden Tropfen unter einem Deckglas so angebracht, daß sie für eine von der rechten Seite zuzuführende Kapillare bequem zugänglich ist. Diese möglichst freie Kapillare, die am Ende etwas nach oben gebogen ist, wird aus einem dünnwandigen Glasrohr verfertigt, an dem sie haften bleibt. Wird diese Kapillare, am besten mit Hilfe einer mechanischen Schraubenverschiebung, ganz in die Nähe der zu isolierenden Zelle gebracht, so dringt diese durch die Kapillarität ein. Gelangen auch andere Zellen in die Kapillare, so wird der Inhalt vermittelst eines am Ende des Glasrohres angebrachten Gummischlauches in ein ebenfalls unter dem Deckglas befindliches Nährlösungströpfchen geblasen. Bei einer neuen Isolierung der gewünschten Zelle unter dem Mikroskop gelingt es dann leicht nur diese zu fassen und so in einen anderen hängenden Tropfen oder in eine Nährlösung zu übertragen, in der sie zur Entwickelung kommt. Für die Isolierung von Bakterien muß die Kapillare möglichst fein sein; man kann so enge Kapillaren anfertigen, da große Hefezellen in sie nicht hineingehen können, während kleineren der Eingang möglich ist. Bei einiger Uebung kann man auch ohne mechanische Bewegung der Kapillare unter sterilen Bedingungen zum Ziele kommen und auf die geschilderte Weise die verlangten Zellen aussuchen und bezüglich ihrer Veränderlichkeit prüfen. H. Pringsheim (Charlottenburg).

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 2. verm. Aufl. 15. Fortsetzung. Jena (G. Fischer) 1905—1908.

Die nach langer Zwischenpause erschienene 18. Lieferung bringt nun den Schluß des zweiten Bandes, sowie das hierzu gehörige Titelblatt und Inhaltsverzeichnis.

Das in der 17. Lieferung anfangende 22. Kapitel, welches von der Haltbarmachung des Fleisches handelt, wird in der jetzt vorliegenden Lieferung fortgesetzt und kann nun zum Referat gelangen. Reg.-Rat Prof. Dr. Rost bespricht im einleitenden Paragraphen das Fleisch vom anatomischen, chemischen und physikalischen Standpunkt und geht dann auf die spontanen Veränderungen nach der Tötung der Tiere (Autolyse) über; im § 104 folgen Angaben über die Infektion des Fleisches mit Bakterien und der jetzt feststehende Satz, daß bei lebenden gesunden Tieren die Gewebe, das Blut und die Lymphe keimfrei sind, wird ausführlich bewiesen. Aus den Angaben über die Keimfreiheit der Luftwege und der Lungen geht hervor, daß hier eine Sterilität zu den Seltenheiten gehört, dagegen ist der Darm bei Geburt der Tiere bakterienfrei, bis durch die Nahrungsaufnahme die Bakterieneinwanderung beginnt. Eine sehr interessante Beobachtung ist Levin zu verdanken, welcher fand, daß der Darminhalt arktischer Vögel sich in mehr als doppelt so viel Fällen steril erwies als bei den an den Schären bei Stockholm gefangenen Tieren gleicher Art. Schließlich werden in diesem Paragraphen noch die Einwanderungswege der Bakterien bei den geschlachteten Tieren besprochen und auf die Flora der normalen Fleischfäulnis, auf die Leuchtbakterien usw., welche im ersten und dritten Band besprochen sind, verweisen. Die nächsten Paragraphen setzen den Begriff und das Wesen der Haltbarmachung des Fleisches im allgemeinen sowie durch Trocknen, Räuchern, Salzen und Pökeln auseinander. Bei letzterem interessiert die Beeinflussung der Bakterien durch konzentrierte Salzlösungen. Der Grundsatz, daß das Fleisch kranker Tiere durch das Pökeln nicht gesundheitsunschädlich gemacht werden kann, wird durch viele Beispiele bewiesen. So hat Forster festgestellt, daß z. B. die Schweinerotlaufbakterien sich in konzentrierten Kochsalzlösungen wochen- ja monatelang virulent erhalten, und Petri wies nach, daß die gewöhnlichen 14—24-proz. Salzkonzentrationen die Rotlaufbacillen in Reinkulturen nur wenig und langsam in ihrer Keimfähigkeit herabsetzen und daß solche erst nach 26-tägiger Einwirkung der 24-proz. Kochsalzlösung abgetötet waren. Energischer wirkten die mit Eiweiß und anderen, aus dem Fleische selbst stammenden Stoffen beladenen Pökellaken auf die genannten Bakterien ein, da hier schon nach 8 Tagen Abtötung erfolgte. In eingepökeltem, in Lake liegendem Fleisch hielten sich virulente Rotlaufbacillen bis zu einem halben Jahre und darüber. Pettersen fand, daß Fleisch- und Fischkonserven, die in 5—23-proz. Chlornatriumlösung bei 25 ° C bis zu 2½ Monaten lagen, erst bei einer Konzentration von 20 Proz. an eine deutliche Entwickelungshemmung der Bakterien zeigten und für Fische eine höhere Konzentration als für Schlachttierfleisch erforderlich war.

Auf die weiteren für Interessenten sehr wichtigen Angaben sei auf p. 412 verwiesen. Als morphologisch wichtig sei noch hervorgehoben, daß manche Bakterien in Gegenwart gewisser Neutralsalze bei höheren Konzentrationen eigenartige Degenerations- und Involutionsformen bilden. Auch § 109 — die Haltbarmachung des Fleisches durch antiseptische Stoffe — enthält wichtige bakteriologische Angaben; hier wird von chemischen Stoffen Gebrauch gemacht, welche nicht mittelbar durch Entziehung der für Bakterien erforderlichen Lebensbedingungen, sondern unmittelbar durch Beeinflussung des lebenden Protoplasmas der Bakterien wirken. Am häufigsten werden als Konservierungsmittel Borsäure, Borax, schwefelige Säure und deren Salze, sowie Formaldehyd benutzt. Für das Gebiet des Deutschen Reiches sind aber seit 1902 die genannten, sowie eine Anzahl anderer zu diesem Zwecke verboten worden, da eingehende Studien und trübe sanitäre Erfahrungen den Beweis der Unzulänglichkeit dieser Mittel erbrachten. Gegenüber der früher ausschließlich geübten Nahrungs- und Genußmittelkonservierung durch Kälte, Erhitzung, Wasserentziehung mit und ohne Chlornatriumzusatz wurde diese neue Desinfektion der zur Ernährung wichtigen Stoffe aus dem Grunde so stark gefördert, weil sie leicht und bequem zu handhaben war, keine kostspieligen Einrichtungen erfordert und rasch zu einem scheinbar guten Resultate führte, bei welchem die Unzulänglichkeit der Mittel durch schwere Gesundheitsschädigungen das Einschreiten der Behörden und schließliches Verbot herbeiführten.

So haben die Versuche mit Borsäure gelehrt, daß sie in Mengen von 0,5 Proz. keinen hemmenden Einfluß auf eine der untersuchten Bakterienarten ausübte, daß sie aber in 2,5—5-proz. Lösung nur einige Keime, nicht aber die gefürchteten Fleischvergiftungsbacillen van Ermengems im Wachstum unterdrückte. Auch die schweflige Säure ist ein schwaches Antiseptikum, und noch geringer ist die antiseptische Kraft der Sulfate, und R. Koch hat, die Untersuchungen von Wolffhügel ergänzend, festgestellt, daß die Säure sowohl wenn sie auf trockene Objekte als auch wenn sie gleichzeitig mit Wasser oder Wasserdampf einwirkt, einen eigentlichen Desinfektionswert nicht besitzt und z. B. auf Milzbrandsporen fast gar nicht einwirkt. Aus zahlreichen anderen Arbeiten geht noch hervor, daß sie über die wirkliche Beschaffenheit der Ware hinwegzutäuschen vermag und dem Fleisch den Anschein der Frische in trügerischer Weise verleihen kann. Das Formaldehyd aber, welches wie bei uns auch in Frankreich zur Konservierung verboten ist, vermag in den empfohlenen kleinen Mengen die Bakterienentwickelung nicht nennenswert zu beeinflussen, und pathogene Keime werden erst bei mindestens 1-proz. Zusätzen abgetötet, das sind aber Mengen, welche Geruch und Geschmack schon wesentlich beeinflussen. Aus der großen Reihe anderer untersuchter Konservierungsmittel sei als eines der zuverlässigsten das benzoesaure Natron hervorgehoben, dessen Einwirkung zwar noch die Kälte des Eisschrankes übertrifft, aber auf gesunde Tiere schädigend einwirkt. Den besten Erfolg verspricht noch das neueste Verfahren von Emmerich und Deichstätter, welches das zu konservierende Fleisch durch antiseptisches Schlachten gewinnt, wobei dann in die Blutgefäße Salzlösung, Essig, Methylalkohol, Glyzerin und andere Zusätze unter hohem Druck eingespritzt werden. Auch dieses Verfahren scheint noch nicht stets gleichmäßig günstige Resultate zu liefern, da die Versuche noch fortgesetzt werden.

Die §§ 110—112 bringen Abhandlungen über die Haltbarmachung des Fleisches unter Luftabschluß, insbesondere nach vorhergehendem Kochen, ferner durch Abkühlung oder Gefrierenlassen und durch Einführung antiseptischer Schlacht- und Konservierungsmethoden. Bei den antiseptischen Schlachtverfahren sei ganz besonders auf die schon vorher erwähnte von Emmerich im großen benutzte Methode (p. 430) hingewiesen. Läßt sie sich praktisch durchführen, dann ist diese wichtige Frage in idealer Weise gelöst. In demselben Paragraphen werden auch die Methoden von Deligny, Dosquet u. a. besprochen, welche alle darauf hinzielen, das keimfreie Fleisch dem Tierkörper keimfrei zu entnehmen und durch eine, jede Infektion ausschließende Aufbewahrung haltbar zu machen. Zum Schlusse wird in § 113 auf die Folgen des nicht sachgemäßen Konservierens des Fleisches aufmerksam gemacht. Hier werden jedoch die bakteriellen Zersetzungen des Fleisches durch Erkrankung der Tiere und die Ursachen der sogenannten Wurstvergiftung nicht in Betracht gezogen, da hierüber im dritten Band p. 117 berichtet wird, sondern nur kurz werden die Zersetzungen des ungenügend und nicht sachgemäß konservierten Fleisches angeführt. Eingehend werden die bakteriologischen Untersuchungsmethoden der Konserven geschildert und besonders auffallende Ergebnisse hervorgehoben. Sehr erfreulich sind Deichstaetters Angaben über untersuchte bayerische Armeekonserven; er fand vom Jahre 1895—1901 nur zwei keimhaltige und verdorbene Büchsen, und Wintgen fand in den Erzeugnissen der Armeekonservenfabriken in Mainz und Haselhorst bei Berlin niemals Bakterien, während Privatfabriken nicht ganz so sorgfältig arbeiteten. Hier muß übrigens besonders darauf hingewiesen werden, daß das Aufgetriebensein der Büchsendeckel, Bombage genannt, nicht immer als eine durch Bakterientätigkeit hervorgerufene Zersetzung anzusehen ist, da solches auch als eine rein chemisch zustande gekommene Wasserstoffbildung eintreten kann, indem durch Einwirkung der leicht sauren Bouillon auf das galvanisch schwach resp. ungenügend verzinnte Eisenblech der Büchsen sich phosphorsaures Eisenoxydul unter Wasserstoffbildung entwickelt. Infolgedessen fordert Pfuhl die obligatorische Einführung bakteriologischer Untersuchung aller Konserven und empfiehlt im weiteren zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der Fabrikation den Zusatz von sporenhaltiger Gartenerde zu einzelnen Büchsen, um die genügende Sterilisierung durch solche Testobjekte zu beweisen (p. 435). Auch durch kleine Undichtigkeiten der Falzstellen und feinste Risse und Sprünge der Büchsen können Infektionen stattfinden.

Das 23. Kapitel: Die Haltbarmachung von Gemüsen durch Erhitzen stammt aus der Feder von Prof. Dr. Alfred Koch-Göttingen. In einer äußerst praktischen und übersichtlichen Form bringt der Verf. Abhandlungen über dieses Konservieren durch Erhitzen unter Luftabschluß für den häuslichen kleinen und den großen Fabrikbetrieb; ebenso werden die chemischen Veränderungen, welche die Konserven beim Verderben erleiden, erörtert. Auch die bakteriologische Seite bei diesen Vorgängen ist durch reiche Angaben gebührend gewürdigt; der vor einigen Jahren in Darmstadt vorgekommene Fall,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

welcher damals ungeheures Aufsehen erregte, indem durch den Genuß konservierten Bohnensalates sehr schwere Vergiftungen eintraten und den Tod von 11 Personen herbeiführten, ist angegeben. Es sei daran erinnert, daß seiner Zeit Landmann hierbei ein Toxin und den sporenbildenden Bac. botulinus van Ermengem nachwies, welch letzterer schon öfter zu Fleischvergiftungen Veranlassung gab. Der Genauigkeit halber aber sei auf das mehrfach angezweifelte Resultat Landmanns (p. 453) verwiesen und daß andere Forscher den Bac. (Proteus) mirabilis und Proteus vulgaris als den Schuldigen ansehen. Als nie zu vergessende Lehre ist aus diesem traurigen Falle der Schluß zu ziehen, daß Gemüsekonserven nur nach vorherigem Aufkochen zu genießen sind, weil hierdurch jedenfalls ein großer Teil der gebildeten Bakterientoxine zerstört wird.

Der den Schluß des zweiten Bandes bildende Abschnitt über die Mykologie der Zuckerfabrikation und das Bäckereiwesen hat den Herausgeber dieses Werkes Prof. Dr. Lafar-Wien zum Verfasser. Beginnend mit der Zuckerfabrikation, wird zunächst die Gasbildung im Diffuseur angeführt. Hier interessieren die Angaben von Orth, welcher den Gehalt des Saftes einer Diffusionsbatterie auf 200000 Keime in 1 ccm durch das Plattenverfahren bestimmte, und von Laxa, welcher noch höhere Zahlen fand; vorwiegend waren Sporenbildner vertreten, darunter auch Clostridium gelatinosum, und Schöne stellte fest, daß im Diffuseur noch bei + 75° C Bakterienwachstum statthat. Die vorgenannten Forscher haben aber übersehen, daß nach ihren angewendeten Methoden luftscheue Organismen sich nur schwer oder überhaupt gar nicht auffinden lassen und auf solche kommt es bei der häufig auftretenden Erscheinung der Bildung brennbarer Gase in erster Linie an. So deutete Dehérain diese Erscheinung als das Ergebnis einer im Diffuseur sich abspielenden Buttersäuregärung; zukünftigen Forschern ist in dieser Hinsicht noch freies Feld gelassen. — Eingehend wird hierbei der Zusatz von Pilzgiften zu den Rübenschnitzeln zwecks Verhütung von Zersetzungen durch Bakterien während der Diffusion besprochen (p. 460—61). Im § 118 folgen dann die Mitteilungen über Zooglöen- und Schleimbildung durch kokkenförmige Spaltpilze in der Rübenzuckerfabrik. Die lappigen, handgroßen und an der Oberfläche warzigen Massen, welche, vom Beginn der Rübenzuckerfabrikation an bekannt, sich auf dem Preßsafte, aber auch auf den Preßtüchern und Saftsieben ausscheiden und kurzweg als Froschlaiche bezeichnet wurden, konnten erst nach dem Aufkommen des bakteriologischen Reinzuchtverfahrens genau untersucht werden. So wurde 1892 durch Liesenberg und Zopf nachgewiesen, daß hauptsächlich Leuconostoc mesenteroides (Abbildung p. 464—65) die wesentlichsten Schleimbildner sind. Daß heute aber dieser Name gefallen ist und wir jetzt diesen Organismus als Streptococcus mesenteroides benennen müssen, ist eine Folge morphologischer Studien, welche bewiesen, daß die Schleimbildung oder Vergallertung der Zellhaut nur auf Dextrose oder Saccharose haltenden Nährböden eintritt und bei Mangel an diesen Zuckerarten der Organismus sich zu Ketten hüllenloser Kugeln anlagert und somit ein Streptococcus ist. Dieser Spaltpilz war bis 1901 der einzige in Reinzucht studierte Schleimbildner und alle übrigen in § 119 besprochenen Schleimbildner haben im Gegensatze zu vorstehendem Stäbchenform. Die zuerst zu nennenden Stäbchenarten Bacter. gelatinosum betae und Bacter. pediculat. bilden gleichfalls dicke

Schleimdecken. Poupe gelang es dann als erstem, eine sporenbildende Stäbchenart aus einer Schleimbildung zu isolieren, und dieser Bacillus ist ein Vertreter jener zweiten Gruppe von Spaltpilzen, welche den Nährboden selbst durch Umwandlung eines seiner gelösten Bestandteile in ein schleimiges Spaltprodukt schleimig machen, ohne daß diese Stäbchen selbst eine wie immer geartete gallertartige Umhüllung aufweisen. Hierher gehört auch noch Bac. viscosus sacchari Kramer; dieser wächst aber nur in neutralen oder schwach alkalischen Nährböden. Sehr ausführliche Angaben folgen dann noch über eine neue Gattung — Semiclostridium — deren Vertreter morphologisch übereinstimmen, physiologisch jedoch Abweichungen voneinander aufweisen und auch durch das Agglutinationsverfahren als verschieden befunden werden. Auch auf eine in der Luft der Zuckerfabriken sich findende Art — Plenobacterium — wird noch hingewiesen.

In § 120 werden die Organismen der Säfte in der Rübenzuckerfabrikation besprochen und praktische Angaben über die Haltbarmachung der Saftproben für Analysenzwecke gemacht. Von großer Wichtigkeit sind ferner die sehr umfassend geschilderten Einzelheiten der Schaumgärungen in den Füllmassen, Sirupen und Melassen der Rübenzuckerfabriken, so auch die Salpeter- und Amidgärung, ferner die Zersetzungen im Rübenrohzucker und in der Raffinade und schließlich die Störungserscheinungen bei der Verarbeitung des Zuckerrohres und deren Produkten. Die bei diesen Vorgängen tätige Bakterienflora wird dem Spezialinteressenten von größter Wichtigkeit sein; das beigegebene Literaturverzeichnis ist durch seine zahlreichen Angaben ein Beweis für die auf diesen Gegenstand verwendete Arbeit.

Das 25. Kapitel — Mykologie der Bäckereiwaren — beginnt mit der Mehlteiggärung, welche bakteriologisch von ganz hervorragendem Interesse ist. Aus den Mitteilungen ergibt sich, daß der Keimgehalt des Mehles der Brotfrüchte auf zweierlei Quellen zurückzuführen ist, da außer den auf der Außenseite des Kernes aufsitzenden Keimen tatsächlich auch im Inneren Mikroben existieren. Diese auch von H. Buchner, K. B. Lehmann u. a. bestrittene Angabe ist von P. Lindner und T. Chrzaszcz für Gerste bewiesen worden, indem sie zeigten, daß schon zur Zeit der Blüte Einwanderung von verschiedenen Keimen stattfindet, welche im reifen Korn zwischen dem Mehlkörper und den Spelzen entwickelungsfähig vorhanden sind. Die Menge der äußerlich anhaftenden Keime hängt natürlich mit der mehr oder minder sauberen Behandlungsweise der Getreidekörner zusammen und differieren die gemachten Zahlen über den Keimgehalt ganz bedeutend (p. 504 bis 505). So wird auch der Keimgehalt des Mehles um so geringer ausfallen, je sanfter und gründlicher bei dem Mahlen die Schale mit dem ihr aufsitzenden Schmutz und Keimgehalt von dem Mehlkörper abgeschliffen und je sorgfältiger Mehl und Kleie getrennt werden. Aus Dünnenbergers Untersuchungen (1888) geht hervor, daß bei einem nur aus Mehl und Wasser bereiteten Teige Gärung und Gasbildung als reine Bakterieneinwirkung anzusehen sind, und 1894 isolierte Wolffin den gasbildenden Bac. levans, welcher in späteren Untersuchungen von vielen Forschern als Bact. coli commune angesehen und lange sehr energisch umstritten wurde, bis dann Holliger 1902 feststellen konnte, daß unbeschadet vieler Uebereinstimmungen die Gasbildung in 2-proz. Traubenzuckerbouillon bei 37 ° C während 48 Stunden bei Bac. levans aus ungefähr $^2/_3$ Kohlensäure und $^1/_3$ Wasserstoff besteht und

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bei Bact. coli commune gerade die gegenteiligen Gasmengen gebildet werden, außerdem soll auch die Eigenbewegung des ersteren weit lebhafter als die von Bact. coli sein. Ferner ist bewiesen worden, daß auch eine zweifellose Reinzucht von Bact. coli einen hiermit beimpften sterilen Mehlteig zum Aufgehen bringen kann. Die zu solchen Versuchen erforderliche Keimfreimachung des Mehles bietet aber ganz außerordentliche Schwierigkeiten, da längere Anwendung erhöhter Temperaturen zwecks sicherer Abtötung von Sporenbildnern die chemische Natur des Mehles sehr wesentlich beeinflussen und eine Behandlung mit Aether, selbst nach 46-tägiger Einwirkung noch entwickelungsfähige Sporen erkennen ließ. — Noch gar nicht mykologisch erforscht ist die Gärung des Lebkuchenteiges. Die folgenden Paragraphen über Sauer- und Hefengärung sind gleichfalls sehr instruktiv.

Das Schleimigwerden des Brotes, gewöhnlich auch als Fadenziehendwerdend bezeichnet, ist im allgemeinen auf Vertreter der Kartoffelbacillengruppe zurückzuführen, welche sehr widerstandsfähige Endosporen zu bilden vermögen. Im Laufe der letzten Jahre ist eine Anzahl solcher Schädlinge isoliert worden, und Czadek und Kornauth haben bewiesen, daß selbst in stark schimmelig gewordenen Mehlen noch Erreger des Schleimigwerdens lebendig und wirkungsfähig bleiben können. Sehr wissenswert sind die chemisch-biologischen Vorgänge hierbei, und die infolge Genusses solchen Brotes vorgekommenen Vergiftungserscheinungen werden als durch Zersetzungsprodukte des Klebers durch diese Schleimbildner hervorgerufen betrachtet.

Der § 128 — das Schimmeln und das Farbigwerden des Brotes — erörtert zunächst die jetzt unzweifelhaft durch Otto und einige italienische Forscher nachgewiesene Möglichkeit der Bildung von krampferregenden Giften durch Rassen des Aspergillus fumigatus und Penicillium glaucum und verweist auf p. 381 des zweiten Bandes, woselbst die auf ähnlichen Gründen beruhende Verursachung der Pellagra besprochen wird. Abgesehen von jener möglichen Vergiftungsgefahr, ist aber ein von Schimmelpilzen befallenes Brot durch seinen widerlichen Geruch und oft eklig bitteren Geschmack als zum menschlichen Genusse ungeeignet zu bezeichnen und zu verwerfen. Als hierhergehörig sind noch zu nennen Mucor ambiguus und de Baryanus, Rhizopus nodosus und Mucor plumbeus. — Mit Kreidekrankheit wird eine Veränderung lagernden Brotes bezeichnet, welche durch Auftreten kreidig-weißer Pilzrasen an der Oberfläche des Brotes sich auszeichnet; hieraus hat man Monilia variabilis und Endomyces fibuliger (Abbildungen p. 529) isoliert. Daß bei rotem Brot (blutendes Brot) im wesentlichen Bact. prodigiosum beteiligt ist, ist lange bekannt; neuerdings werden auch noch andere derartige Farbstoffbildner genannt, so unter anderem Oidium aurantiacum und aureum. Beim Blauwerden des Brotes aber nimmt man einerseits Bakterientätigkeit an, andererseits soll der Gehalt des Mehles an Samen von Rhinanthus und Melampyrum resp. das in diesen enthaltene Rhinanthocyan die Ursache der Verfärbung sein.

Den Kapitelschluß bildet die Nachweisung untergäriger Bierhefe in der Preßhefe des Handels, und sei auf die sorgfältige Bearbeitung dieses Paragraphen und die begleitenden Abbildungen verwiesen.

Rullmann (München).

Schroeter, J. †, Pilze. 2. Hälfte. 5. Lieferung. (Kryptogamenflora von Schlesien. Im Namen der schlesischen Gesellschaft für vaterländische

Kultur herausgegeben von Ferdinand Cohn. Bd. III.) 1908. 8°. p. 500a—597. Breslau (J. U. Kern) 1908.

Durch die von A. Lingelsheim fertiggestellte Zusammenfassung der in Bd. III des genannten Werkes aufgezählten und behandelten Pilze nach ihrem Nährboden kam ein Abschluß zustande für das so wichtige Pilzwerk. Diese Zusammenstellung ist so gehalten, wie die entsprechende in der ersten Hälfte des Bd. III. p. 715—756. Lingelsheim hat auch ein Register verfaßt, das so wie jenes in der ersten Hälfte des Bandes angeordnet ist. Da die Sichtung der von Schroeter verarbeiteten Fungi imperfecti riesige Schwierigkeiten darbot, wurde davon Abstand genommen. Es ist dies kein so großer Schaden, da G. Lindau in nächster Zeit eine umfassende Zusammenstellung dieser schwierigen Pilzgruppe erscheinen läßt. Das große Schroetersche Werk liegt dank den Bemühungen Dr. Lingelsheims und der Verlagsbuchhandlung nunmehr abgeschlossen vor uns und kann mit Vorteil benutzt werden. Matouschek (Wien).

Rosenthaler, L., Durch Enzyme bewirkte asymmetrische Synthesen. (Biochem. Zeitschr. 1908.)

Verf. machte Versuche mit Benzaldehyd und Blausäure, welche sich zu Benzaldehydcyanhydrin vereinigen, und studierte den Einfluß von Emulsin auf diese Reaktion. In Schüttelapparaten wurden die Experimente angestellt, da das System Benzaldehyd-Blausäure-Emulsin aus mehr als einer Phase besteht. 0,5 g Emulsin, 5,3 g Benzaldehyd, 1,35 g Blausäure wurden eine bestimmte Zeit lang bei entsprechender Temperatur im Schüttelapparat behandelt. Der Einfluß des Schüttelns machte sich (gegenüber der nicht oder schwach geschüttelten Probe) durch Vermehrung der optisch-aktiven Substanz geltend. Die optisch-aktive Substanz ist d-Benzaldehydcyanhydrin; sie wird durch die Gegenwart von Emulsin hauptsächlich gebildet; ersetzt man Emulsin z. B. durch Eiweiß oder Inulin, so verläuft die Reaktion nicht asymmetrisch.

Auch eine Beschleunigung der Reaktion (Blausäurebindung) wird durch das Emulsin bewirkt, wie die Versuche lehrten.

„Man wird sich vorstellen müssen, daß die Blausäure eine lockere (vielleicht hydrolysierbare) Verbindung mit dem jedenfalls optisch-aktiven s-Emulsin eingeht. An den HCN-Rest dieser Verbindung lagert sich dann der Benzaldehyd unter Bildung eines asymmetrischen C-Atoms an. Dadurch, daß die Cyanhydrinsynthese an einem optisch-aktiven Komplex erfolgt, verläuft sie einseitig. Die dadurch dem Benzaldehydcyanhydrin aufgezwungene Konfiguration bleibt auch nach dessen Lostrennung vom optisch-aktiven Komplex erhalten. Die asymmetrische Synthese würde also in diesem Falle genau nach dem von E. Fischer aufgestellten Schema verlaufen."

Die Hauptwirkung des Enzyms wäre nach dieser Anschauung bei dem geschilderten Vorgang nicht die katalytische, sondern eine „dirigierende".

Die Methode jener Synthese zeigt uns nach Verf. ferner einen der Wege, auf denen die Pflanze ihre optisch-aktiven Körper darstellt. Die enzymatische Methode führt auf einfachstem Wege unmittelbar zu polarimetrisch reinen Körpern. Th. Bokorny (München).

Buchner, Eduard und **Duchaček, Franz,** Ueber fraktionierte Fällung des Hefepreßsaftes. (Biochem. Zeitschr. Bd. XV. 1909. p. 221.)

Bei Versuchen, durch fraktionierte Fällung des Hefepreßsaftes Zymase und Ko-Enzym voneinander zu trennen, fanden Verff., daß, während durch Eintragen von Preßsaft in 12 Volumina Alkohol oder Alkohol-Aethergemisch oder 10 Volumina Aceton Niederschläge mit voller Wirksamkeit des verarbeiteten Saftes gewonnen werden, durch allmähliches Zufügen von Fällungsmitteln zum Preßsaft die Gärkraft der vereinigten Fraktionen gegenüber dem Ausgangsmaterial eine bedeutende Einbuße erleidet. Verff. glauben den Unterschied dadurch bedingt, daß die bei der fraktionierten Fällung entstehenden Niederschläge noch wasserreich sind und daher die zerstörenden Einflüsse der mitgefällten anderen Fermente gegenüber der Zymase und besonders dem Ko-Enzym zur Geltung kommen lassen. Für diese Annahme spricht die Beobachtung, daß sich Niederschläge, die sehr schnell abgesaugt und getrocknet werden konnten, bedeutend wirksamer erwiesen. Kurt Meyer (Stettin).

Resenscheck, Friedrich, Einwirkung von kolloidalem Eisenhydroxyd auf den Hefepreßsaft. (Biochem. Zeitschr. Bd. XV. 1908. p. 1.)

Versetzt man Hefepreßsaft mit kolloidalem Eisenhydroxyd und filtriert vom entstehenden Niederschlag ab, so hat der Saft eine bedeutend geringere Gärkraft als zuvor. Bei längerer Gärung gleicht sich dieser Unterschied allerdings wieder aus. Der Niederschlag besitzt keine Gärwirkung. Dagegen verstärkte er die Wirkung frischen Preßsaftes, und zwar ebenso sehr wie die entsprechende Menge von Kochsaft. Ferner gelang es allen unwirksam gewordenen Preßsaft mit dem Eisenniederschlag zu regenerieren. Hiernach ist es sehr wahrscheinlich, daß der durch kolloidales Eisenhydroxyd im Preßsaft erzeugte Niederschlag das Ko-Enzym enthält, zumal ein identisch wirkender Niederschlag in Kochsaft erzeugt wird. Dementsprechend läßt sich ein mit Kolloid behandelter und dadurch abgeschwächter Preßsaft durch Kochsaft zu seiner früheren Wirksamkeit degenerieren. Die Fällung weist auch einen bedeutenden Gehalt an Phosphorsäure auf, die ja auch einen wesentlichen Bestandteil des Ko-Enzyms bilden soll. Das Ko-Enzym bildet mit dem Eisenhydroxyd wahrscheinlich eine Adsorptionsverbindung.

Kurt Meyer (Stettin).

Bokorny, Th., Assimilation des Formaldehyds. (Pflügers Archiv. 1908. November.)

Der Formaldehyd ist in neuester Zeit als Bestandteil des gegorenen Hefepreßsaftes nachgewiesen worden. Ebenso ist die Ernährbarkeit mancher Pilze (Bakterienarten) mit Formaldehyd erwiesen. Darum dürfte eine Notiz über das Ernährungsvermögen dieser Substanz bei Algen hier einiges Interesse haben.

Die Kohlensäureassimilation in den Pflanzen, von den Botanikern oft „Assimilation“ schlechthin genannt, führt zur Bildung von Stärke in sehr vielen Fällen; letztere ist nach Sachs ein direktes Produkt der Assimilation. In manchen Fällen freilich wird nicht Stärke, sondern Zucker als Assimilationsprodukt nachgewiesen; so gibt Sachs selbst von Allium Cepa an, daß in den Chlorophyllkörnern dieser Pflanze Glykose als erstes Assimilationsprodukt gebildet werde, statt Amylum. Später wurde dasselbe von anderen Forschern bestätigt und für eine Reihe von weiteren Pflanzen nachgewiesen. Auch ist man jetzt auf Grund der Versuche von J. Boehm und der Beobachtungen von A. F. W. Schimper der Meinung, daß der Stärkebildung regelmäßig

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Zuckerbildung vorausgehe und aus dem Zucker erst die Stärke werde, wobei die Konzentrationsgrenze der Zuckerlösung in der Pflanzenzelle maßgebend sei für den Eintritt der Stärkeabscheidung, freilich bei jeder Pflanzenart wieder in anderem Grade; so bilden viele dikotyle Pflanzen aus Zucker leicht, d. h. schon bei geringer Konzentration des letzteren, Stärke, viele monokotyle schwierig. 100 ccm des Saftes aus den Blättern von Allium Cepa enthalten nach A. Meyer im ganzen 3,2 g lösliche Kohlehydrate, wovon 2,5 g reduzierende und 0,7 g nicht reduzierende (erstere wahrscheinlich Glykosen, letztere Rohrzucker). Die stärkereichen Blätter von Helianthus tuberosus enthielten auf 100 ccm des ausgepreßten Saftes nur 0,052 g lösliche Kohlehydrate, worunter 0,05 g reduzierende und 0,002 nicht reduzierende waren.

Für die Frage, ob der Formaldehyd ein Zwischenprodukt bei der Kohlensäureassimilation sei, kommt es übrigens nicht darauf an, ob die Stärke direkt als erstes Kohlehydrat entsteht, oder ob die Zuckerbildung vorausgeht. Die Formaldehydtheorie wird dadurch nicht berührt, da letzterer, der Formaldehyd, sowohl ein Produkt mit nur 6 Kohlenstoffatomen als ein solches mit der vielfachen Anzahl liefern kann. Freilich dargestellt wurden bis jetzt aus dem Formaldehyd nur Kohlehydrate von niederer Zusammensetzung. Die von O. Loew (durch Stehen von 4-proz. wässeriger Formaldehydlösung, welche mit Calciumhydroxyd gesättigt wurde) dargestellte Formose besitzt die Eigenschaften wahrer Zuckerarten. Auch ein gärungsfähiger Zucker wurde von O. L. hergestellt.

Hingegen müßte die Kohlensäureassimilation anders verlaufen, wenn fettes Oel als direktes Assimilationsprodukt vorkäme, wie bei manchen Pflanzen behauptet wurde. So berichten Pringsheim und Borodin, daß bei der Alge Vaucheria sessilis fettes Oel als Assimilationsprodukt statt der Stärke auftritt.

Briosi behauptet von den Musaceen, daß ihr Assimilationsprodukt Fett sei, was aber von Holle bestritten wurde, da das Oel (von Strelitzia) durch Verdunkelung nicht verschwindet, durch Beleuchtung nicht merklich zunimmt.

Naegeli hob für Rhipsalis funalis, Cereus variabilis und die nichtgrünen Süßwasser- und Meeresalgen das Vorkommen von Oeltropfen statt der Stärke hervor.

Es ist aber doch sehr zweifelhaft, ob die genannten Pflanzen das Fett direkt aus Kohlensäure bilden; A. Meyer bestreitet dies, ebenso, wie schon erwähnt, Holle. Bewiesen ist das keinesfalls bis jetzt.

Die vom Verf. selbst beobachteten Fälle, wo die gewöhnlichen Süßwasser-Diatomeen Fett aus dargebotener organischer Nahrung bilden (Th. B., Beteiligung chlorophyllführender Pflanzen an der Selbstreinigung der Flüsse [Pett. Arch. Hyg. 1894. p. 187]), schlagen nicht direkt hier ein, weil es sich doch nun um die Assimilation der Kohlensäure handelt.

Hingegen würde die von A. Meyer geäußerte Vermutung, daß Eiweiß als direktes Assimilationsprodukt auftreten könne, welche auch durch die A. F. W. Schimperschen Untersuchungen über Eiweißbildung in den Chlorophyllkörpern unterstützt wird, eine andere Stärkebildungshypothese erfordern. Dann würde die Stärke der Chlorophyllkörper als sekundäres Produkt, d. h. als Abspaltungsprodukt des Eiweißes anzusehen sein.

In diesem Falle könnte die von O. Loew stammende Hypothese über die Eiweißbildung aus Formaldehyd und Ammoniak, ferner über die Kohlehydratbildung aus Eiweiß den Anforderungen am meisten entsprechen.

Die **Baeyer**sche Hypothese über die Kohlensäureassimilation fordert, daß aus der Kohlensäure unter Zusammenwirken von Licht und Chlorophyll zu CH_2O, dieses dann zu $C_6H_{12}O_6$ wird.

Daß die Kohlensäure in dem Chlorophyllkorn in Formaldehyd verwandelt wird, ist wahrscheinlich, wird aber wohl mit den bisherigen Mitteln nicht experimentell bewiesen werden können, da der Formaldehyd höchstens in minimalen Mengen auftreten kann wegen seiner sehr lebensfeindlichen Beschaffenheit; die Kondensation muß sehr rasch eintreten, sonst würde der Chlorophyllapparat zugrunde gehen. Auch entspricht es dem chemischen Charakter des Formaldehyds, daß er in einer Umgebung wie dem lebenden Plasma nicht lange unverändert bleibt.

Der Nachweis, daß Formaldehyd innerhalb des Chlorophylls in Kohlehydrat verwandelt wird, ist nun vollständig erbracht, da es jetzt auch mit freiem Formaldehyd gelungen ist, Stärkebildung zu erzielen.

Zur Umwandlung von Formaldehyd in Kohlehydrat braucht das Chlorophyllkorn kein Licht, wenn es auch vielleicht den Vorgang beschleunigen mag (man vergl. die Versuche mit formaldehydschwefligsaurem Natron im Dunkeln und im Hellen.) Da nun die Kohlensäureassimilation unbedingt Licht erfordert, so muß die Energie des Lichtes bei der ersten Phase, der Reduktion von Kohlensäure zu CH_2O, ein unentbehrliches Agens sein.

Sauerstoff (Atmung) ist weder zur Assimilation des Formaldehyds, noch zu der des Glyzerins oder Zuckers unentbehrlich. Da der Formaldehyd eine ungemein leicht oxydierbare Substanz ist, hat der Sauerstoffabschluß bei den Formaldehydversuchen auch noch den Zweck gehabt, die Veratmung dieses Stoffes zu verhüten.

Die Versuche über Ernährung mit freiem Formaldehyd können nur auf dem in der Abhandlung beschriebenen Wege — anhaltende Zufuhr von Spuren Formaldehyd — gelingen; andere Versuche sind aussichtslos.

Wahrscheinlich wird auch der Nachweis des Formaldehyds in der Pflanze, wenn er jemals möglich werden sollte, nur durch sehr vorsichtige und anhaltende Zufuhr eines Formaldehyd kräftig bindenden Stoffes gelingen, welcher die lebende Beschaffenheit der Zellen ungestört läßt.

Bei Gelegenheit gedenkt Verf., nochmal auf diesen und den ersten Nachweis zurückzukommen. Autoreferat.

Herzog und **Meier**, Ueber Oxydation durch Schimmelpilze. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LVII. 1908. Heft 1/2.)

Pasteurs bekannte biologische Spaltung von Racematen und inaktiven Gemischen optisch-aktiver Antipoden in die aktiven Formen mit Hilfe von Schimmelpilzen ist zwar bereits von Harden als eine Enzymwirkung ausgelegt worden; aber der Nachweis wurde bis jetzt nicht erbracht. Auch die Vorversuche der Verff. mit lebenden Kulturen von Penicillium glaucum konnten den genannten Spaltungsvorgang nicht mehr als eine Wahrscheinlichkeit erbringen. Nun töteten und pulverisierten sie die Pilzhäute vor den Versuchen und hatten so einfachere Bedingungen. Die Ergebnisse dieser Methode ließen mit Sicherheit erkennen, daß es sich um eine katalytische Oxydationswirkung handelt, die neben einer anderen, davon wahrscheinlich direkt unabhängigen, CO_2-Produktion verläuft. Mühlschlegel (Stuttgart).

Hiltner, Bericht über Versuche auf bakteriologisch-landwirtschaftlichem Gebiete. (Aus dem Bericht über die Tätigkeit der Kgl. agrikulturbotanischen Anstalt in München im Jahre 1907.) München (Rieger) 1908.

Verf. berichtet zunächst über die Laboratoriums- und Gewächshausversuche des Jahres 1907. Die Studien über den weiteren Ausbau des Impfverfahrens zu Leguminosen führten zu dem Ergebnis, daß die Art der Nährstoffbeigabe für den Impferfolg von größter Bedeutung ist, und daß auf manchen Bodenarten die Zugabe von Nährsalzen am besten ganz unterbleibt. Die Abneigung der Lupinen gegen Kalk konnte durch Bespritzen der Pflanzen mit $^1/_2$—1-proz. Eisenvitriollösung vollständig überwunden werden. Auch bei anderen, mehr oder minder kalkempfindlichen Leguminosenarten, namentlich auch bei der Seradella, erwies sich eine derartige Behandlung als überaus geeignet, Wachstumsstörungen zu beseitigen.

Auf die interessanten Ergebnisse der Hiltnerschen Versuche über die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs und anderer Giftstoffe auf die Bodenfruchtbarkeit, insbesondere auf die bei Anwendung von Karbolineum erzielten Erfolge ist bereits vor kurzem an dieser Stelle (Bd. XXI. p. 536) hingewiesen worden.

Die Feldversuche wurden im Berichtsjahre weiter fortgeführt. Auf dem Versuchsfelde Haidhausen, welches vornehmlich dazu dient, die Rentabilität der Brachhaltung im Vergleich zur Gründüngung zu studieren, sind Schädlinge und ungünstige klimatische Verhältnisse äußerst störend hervorgetreten. Soweit die erhaltenen Werte vergleichbar sind läßt sich schließen, daß im Jahre 1905 die höchsten Korn- und Stroherträge sowohl bei Weizen als auch bei Roggen nach Gründüngung erzielt wurden, während in den Jahren 1906 und 1907 in allen Fällen die Erträge auf der Parzelle der Rotation ohne Brache und ohne Anbau von Stickstoffsammlern am höchsten waren. Mit dem Jahre 1907 war eine ganze Rotation des vierjährigen Versuches durchgeführt, und Hiltner konnte daher eine Rentabilitätsberechnung aufstellen. Diese ergab etwa gleich hohe Reinerträge der Brache- und Gründüngungsrotation. Weitaus am besten schloß die Fruchtfolge ohne Brache und ohne Anbau von Stickstoffsammlern ab, die Norfolker Fruchtfolge, welche in den ersten 3 Jahren beträchtlich zurückgeblieben war, ist infolge einer sehr guten Weizenernte im vierten Jahr sehr nahe an die Brache- und Gründüngungsrotationen herangerückt.

Auf dem Versuchsfelde Weihenstephan konnte zum dritten Male bestätigt werden, daß auf dem dortigen schweren Boden das schwefelsaure Ammoniak nach Brache wenig zur Wirkung kommt, während es nach Gründüngung eine bessere Wirkung zeigt als Chilesalpeter. Dagegen hat auf dem leichten Schotterboden des Garchinger Versuchsfeldes nach Gründüngung eine Kopfdüngung mit Salpeter zu Wintergetreide besser gewirkt als eine solche mit Ammoniak.

Ein Impfversuch zu Inkarnat- und Gelbklee ergab das folgende Resultat:

Inkarnatklee, nicht geimpft:	396,0	Ztr.	Grünmasse
„ geimpft:	430,0	„	„
Gelbklee, nicht geimpft:	267,0	„	„
„ geimpft:	306,0	„	„

Vogel (Bromberg).

Bredemann, Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXVIa. 1908. p. 362.)

Verf. hat eine große Anzahl von Stämmen anaërober Bakterien verschiedenster Herkunft einem eingehenden vergleichenden Studium hinsichtlich der morphologischen und physiologischen Eigenschaften unterzogen und ist dabei zu dem überraschenden und wichtigen Ergebnis gelangt, daß alle geprüften Arten identisch waren „und deshalb zu der Species Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann zusammengefaßt werden mußten". Vor Ausführung der vergleichenden Untersuchungen wurden die normalen Eigenschaften der zum Teil stark geschwächten und entarteten Species nach Möglichkeit wiederhergestellt durch eine längere Zeit durchgeführte gleichartige Kultivierung. Nunmehr ergab sich, daß in allen morphologischen und kulturellen Eigenschaften, wie auch in der physiologischen Leistungsfähigkeit, insbesondere dem Verhalten zu verschiedenen Kohlenstoffquellen, der Fähigkeit, Stickstoff zu assimilieren usw. keinerlei durchgreifende Unterschiede zwischen den von verschiedenen Autoren gelieferten Originalspecies und den vom Verf. isolierten, aus den verschiedensten Regionen der Erde stammenden Varietäten bestanden. Alle untersuchten Arten waren daher als zu einer Species gehörig zu betrachten.

Bei einem Teil der untersuchten Stämme war die Fähigkeit der Stickstoffassimilation zunächt nicht vorhanden, bezw. verloren gegangen. Verf. gelang es nun, diese biologische Funktion wieder hervorzurufen, und es zeigte sich alsdann, daß alle die Fähigkeit in gleichem Maße und ebenso besaßen, wie die „Species", bei der Winogradsky dieses Vermögen zum ersten Male gezeigt hatte. Die Regeneration des Stickstoffsammlungsvermögens ließ sich durch Kultur in steriler Erde oder in stickstofffreier, mit steriler Erde versetzter Nährlösung erreichen.

Vogel (Bromberg).

Ehrenberg, Beiträge zur Ammoniakfrage I. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXIX. 1908. p. 259.)

In der vorliegenden Arbeit werden die Reaktionsänderungen des Bodens durch Stickstoffdüngung zum Gegenstand eingehender Betrachtungen gemacht. Die beiden wesentlich als Stickstoffdünger in Frage kommenden Salze, der Natronsalpeter und das schwefelsaure Ammoniak, reagieren physiologisch in entgegengesetzter Richtung, der erstere basisch, das Ammoniaksalz sauer. Düngungen mit den genannten Stoffen werden nun zu Reaktionsänderungen des Bodens Veranlassung geben, welche sich wiederum in mehr oder weniger starkem Grade in einer Einwirkung auf die Entwickelung der Pflanzen bemerkbar machen können.

Verf. hat in Gefäßen auf Hochmoorboden mit und ohne Kalkzusatz weißen Senf, Zuckerhirse und Buchweizen, später auch noch andere Pflanzenarten angebaut, und alle Gefäße gleichmäßig mit sekundärem Ammoniumphosphat gedüngt. Nur die wenig säureempfindliche Zuckerhirse entwickelte sich auch ohne Kalkzusatz einigermaßen befriedigend, Senf und Buchweizen versagten auf dem ungekalkten Boden vollständig.

Eingehend begründete Ueberlegungen führten Verf. zu der Ansicht, daß nicht, wie Wagner annimmt, die Wirkung des Ammoniakstickstoffs durch die Beigabe von Kalk in ganz bestimmter Weise gefördert wird,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sondern daß dieser nur die Schädigungen durch die physiologisch-saure Ammoniakdüngung beseitigt. Weitere Versuche auf Moorboden und mineralischem Boden bestätigten die Richtigkeit einer solchen Auffassung. Durch bestimmte Wahl der Versuchsbedingungen gelang es auch zu erweisen, daß die physiologisch-basische Reaktion des Salpeters ebenfalls zu einer Schädigung der Pflanzenentwickelung führen kann.

Vogel (Bromberg).

Krueger, Ein Beitrag zur Untersuchung der Stickstoffumsetzungen im Boden. [Inaug.-Dissert.] Königsberg 1908.

Verf. suchte unter Anwendung der von Buhlert und Fickendey (diese Zeitschr. Bd. XVI. p. 399) vorgeschlagenen Modifikation des Remyschen Verfahrens festzustellen, wie Düngung mit Aetzkalk und kohlensaurem Kalk sowie Durchlüftung des Bodens auf seine Fähigkeit zu nitrifizieren, zu denitrifizieren, freien Stickstoff zu sammeln, stickstoffhaltige organische Substanzen zu ersetzen, einwirke. Aus den erhaltenen Zahlenwerten zieht Verf. folgende Schlüsse:

Die Stickstoffbindung erfuhr auf den mit Kalk gedüngten Parzellen eine geringe Steigerung. Auch die direkten Stickstoffbestimmungen ergaben in dem gedüngten humosen und lehmigen Boden etwas höhere Werte als in dem ungedüngten. Es besteht daher ein gewisser Parallelismus zwischen der Stickstoffassimilation in den Nährlösungen und dem Stickstoffgehalt des Bodens, die Intensität des Assimilationsprozesses kann jedoch, wie die Analysen zeigten, nicht durch den Laboratoriumsversuch gemessen werden.

Die Nitrifikation war ebenfalls durch die Düngung begünstigt worden, und zwar durch kohlensauren Kalk mehr als durch Aetzkalk. Auch die Tätigkeit der Fäulnisbakterien erfuhr durch die Kalkzufuhr eine Förderung. Der kohlensaure Kalk hatte besonders auf Sandboden die Bildung von Ammoniak aus Pepton begünstigt.

Auf den durchlüfteten Parzellen war die assimilierende Tätigkeit der Bakterien erhöht worden, in der Stärke der Salpeterbildung und Peptonzersetzung konnten bei dem Durchlüftungsversuch keine deutlichen Unterschiede konstatiert werden, dagegen verlief der Denitrifikationsprozeß in den durchlüfteten Böden langsamer.

Vogel (Bromberg).

Sabaschnikoff, Untersuchungen über Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. (Mitt. d. landw. Institutes d. Univ. Leipzig. Heft 9. p. 77.)

Verf. bespricht zunächst die bisherigen Ergebnisse der Arbeiten über die Zersetzung des Calciumcyanamids im Boden und geht dann auf seine eigenen Untersuchungen ein, welche in Umsetzungsversuchen nach Remy-Löhnis, in Felddüngungsversuchen und in der Isolierung der vornehmlich beteiligten Bakterienarten bestanden.

Die Umsetzungsversuche im Laboratorium wurden unter Zugrundelegung der Löhnisschen Erfahrungen in Bodenextrakt-Nährlösungen durchgeführt, zu den Felddüngungsversuchen dienten je 25 qm große Parzellen, welche nach einer Kali-Phosphatgrunddüngung die zu prüfenden Stickstoffdünger — schwefelsaures Ammoniak, Kalkstickstoff, Stickstoffkalk, reines Calciumcyanamid und Dicyandiamid — in solchen Mengen erhielten, daß die Gaben pro Hektar 30 kg Stickstoff betrugen. Um für die Wirkung der verschiedenen Stickstoffdünger eine durchaus gleichmäßige Basis zu schaffen, erhielten die für die Ammoniakdüngung vorgesehenen Parzellen auch eine Aetzkalkdüngung, und zwar entsprechend der im Kalkstickstoff und Stickstoffkalk vorhandenen Menge (ca. 60 Proz.) 225 g pro Parzelle. Die Versuche wurden im Jahre 1907 auf Lehm- und Sandboden und unter Verwendung von Hafer als Versuchspflanze ausgeführt.

Verf. faßt das Resultat seiner Untersuchungen in folgender Weise zusammen:

1) Für die mit Kalkstickstoff und Stickstoffkalk durchgeführten Umsetzungsversuche hat sich von neuem die Verwendung von Bodenextrakt + 0,5 Prom. K_2HPO_4 + 0,1 Prom. Asparagin + 0,1 Prom. Traubenzucker sehr bewährt. Zwar ist auch in der nicht mit Asparagin und Traubenzucker versetzten Lösung Ammoniakbildung möglich, aber die Intensität der Umsetzung bleibt in diesem Falle meist ziemlich gering.

2) Das Erhitzen einer Kalkstickstofflösung wirkt nicht nachteilig, sondern in gewissem Grade förderlich auf den Verlauf der Ammoniakbildung ein.

3) Weder beim Erwärmen noch beim Aufbewahren einer Kalkstickstofflösung wird Dicyandiamid gebildet. Die beim Erhitzen entstehende Substanz ist besonders leicht zersetzlich. Vermutlich handelt es sich um eine dem Dicyandiamid isomere Verbindung.

4) Der in der Literatur vorhandene Widerspruch betreffs der Zersetzlichkeit des Dicyandiamids ist darauf zurückzuführen, daß mit dieser sehr schwer (oder überhaupt nicht) zersetzbaren Substanz jene sehr leicht zersetzliche Verbindung verwechselt wurde.

5) Auch die Kohlensäure veranlaßt nicht das Auftreten des Dicyandiamids. Sie wirkt nicht hemmend, sondern im Gegenteil entschieden förderlich auf die Cyanamidspaltung ein.

6) Die nicht erhitzte Calciumcyanamidlösung wird durch Bakterienreinkulturen nur zersetzt, wenn absorbierende Substanzen zugegen sind. Diese Tatsache ist von großer Bedeutung für die Wirkung des Kalkstickstoffes und des Stickstoffkalkes auf leichten, absorptionsschwachen Böden. Die Vermischung der Düngemittel mit Kompost scheint in solchen Fällen sehr zweckmäßig zu sein.

7) Die Intensität der Cyanamidspaltung schwankt in demselben Boden im Laufe des Jahres sehr. Sie ist weit mehr von der Jahreszeit an sich als von der herrschenden Witterung (insbesondere von der Temperatur und von der Feuchtigkeit der Erde) abhängig.

8) Der in Form von Kalkstickstoff oder als Stickstoffkalk gegebene Stickstoff wird ungefähr in gleichem Maße in Ammoniak übergeführt. An der Umsetzung sind dieselben Bakterien beteiligt. Doch stellt sich bei der Verwendung von Stickstoffkalk eine artenreiche Flora von Begleitbakterien ein, die eventuell modifizierend einwirken kann.

9) Als sehr kräftig cyanamidspaltende Art wurde neben bereits bekannten Arten Bacterium erythrogenes gefunden. Wie jene, ist auch diese Species zur Harnstoffspaltung befähigt.

10) Die im Laboratorium ausgeführten Umsetzungsversuche haben sich von neuem als sehr geeignet erwiesen, um über die Wirkung der verschiedenen stickstoffhaltigen Düngemittel zuverlässige Anhaltspunkte zu gewinnen. Es wäre sehr zu wünschen, daß derartige Untersuchungen, deren Ergebnisse die Resultate der üblichen Düngungsversuche in wert-

voller Weise ergänzen können, auch von anderer Seite in Angriff genommen würden.

Dem Verf. ist durchaus beizustimmen, wenn er, wie bei früherer Gelegenheit schon Löhnis, die Ermittelung des Wertverhältnisses verschiedener Stickstoffdünger allein durch die Berechnung von Durchschnittsergebnissen aus Düngungsversuchen, die unter den verschiedenartigsten äußeren Bedingungen durchgeführt sind, für fehlerhaft erklärt. Es ist vielmehr dahin zu streben, diejenigen Gesetzmäßigkeiten zu erkennen, auf Grund deren es möglich ist, von vornherein mit hinreichender Sicherheit zu bestimmen, welche Düngungsweise jeweils als die zweckmäßigste zu wählen ist. „Daß insbesondere die Kombination von Umsetzungsversuchen im Laboratorium mit Düngungsversuchen auf dem Felde geeignet ist, Resultate zu liefern, die zu wesentlichen Fortschritten in der gedachten Richtung führen, kann nach den bisher vorliegenden einschlägigen Beobachtungen nicht mehr bezweifelt werden.“

Vogel (Bromberg).

Cingolani, M., Ricerche intorno al processo della denitrificazione. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XLI. 1908. p. 521—538.)

Verf. hat zwei neue denitrifizierende Bakterien isoliert. Bacillus β reduziert Nitrate zu Nitriten und ist auf Nitrite wirkungslos, Bacillus α reduziert Nitrite unter Entwickelung freien Stickstoffes, zuweilen unter spurenweisem Entweichen von Ammoniak, insbesondere in Glukose- oder Laktosewasser unter Zusatz von 3 g Kalium- oder Natriumnitrit pro Mille.

Damit wird es klar, warum die Denitrifikation viel schneller bei Zusatz von Ammoniumnitrat erfolgt. Wahrscheinlich bilden beide Bakterien eine Denitrifikationssymbiose. In der Tat liefern dieselben sehr leicht Mischkolonieen auf Gelatine. Das vom Verf. beschriebene Paar hat mit dem von Burri und Stutzer behandelten, aus B. coli und B. denitrificans I bestehenden Paar nichts zu tun. E. Pantanelli (Rom).

de Grazia, S., Su la nitrificazione della calciocianamide in diversi tipi di terreno. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XLI. 1908. p. 241—257.)

Die Nitrifikation von Calciumcyanamid muß vom analogen Vorgange bei Ammonsulfatdüngung streng unterschieden werden, weil Calciumcyanamid, ehe es zersetzt wird, eine verderbliche Wirkung auf Bodenorganismen ausübt. Die Folge dieser Wirkung ist eher in einer zeitlichen Verschiebung als in einer Verlangsamung der Nitrifikation zu finden. Die Nitrifikation des Kalkstickstoffes schreitet in an organischen Stoffen reichen, aber nicht sauren und in tonigen Böden schneller als in Sand- und Kalkboden fort. Dieses Verhalten hängt mit der Wasserkapazität, dem Absorptionsvermögen und der Gärkraft des Bodens zusammen. Dicyandiamid wird überhaupt nicht nitrifiziert; darum stellt seine Bildung nach Verf., entgegen der Perottischen Auffassung, ein erhebliches Uebel bei der Kalkstickstoffanwendung dar. E. Pantanelli (Rom).

de Grazia, S. e Camiola, C., Su l'intervento dei microorganismi nella utilisazione della potassa leucitica. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XLI. 1907. p. 829—840.)

Der Raulinschen Flüssigkeit wurde kristallinischer, resp. gepulverter, 17,82 Proz. Kali enthaltender Leucit zugesetzt, dann wurden Aspergillus niger, Penicillium brevicaule, glaucum und ein Schimmelpilz No. 1 eingesät. Es entwickelten sich alle schlecht; nur bei den Kulturen von Asp. niger wurde bis 6,25 Proz., von Pen. brevicaule bis 3,56 Proz. leucitischen Kalis nach 26 Tagen bei 22° C löslich gemacht.

Zusatz von Strohwasser, enthaltend 0,021 g Kali im Liter, ließ ein üppigeres Wachstum erzielen; dabei wurden folgende Mengen leucitisches Kali nach 70 Tagen bei 22° C gelöst: Asp. niger 51,82 Proz., Schimmelpilz No. 1 59,65 Proz., Pen. glaucum 54,37 Proz., Pen. brevicaule 70,81 Proz., Kontrolle 30,74 Proz. Aus diesen Versuchen geht die hervorragende Bedeutung des Pilzwachstums im Boden bei der Aufschließung und Nutzbarmachung der Alkalisilikate klar hervor.

E. Pantanelli (Rom).

Carbone, D. und **Marincola-Cattaneo R.,** Su l'influenza dell'ossigeno nella decomposizione dei vegetali. (Archivio di Farmacol. Speriment. Vol. VII. 1908. 39 p.)

Zur Fortsetzung der Rossischen Untersuchung über Zersetzung der Pflanzenreste durch Bakterien und Pilze impften die Verff. rohe, mit Wasserstoffsuperoxyd sterilisierte Blätter von Coronilla emerus und aus sterilen Kartoffeln entnommene Stücke mit 24 Schizomyceten-, 1 Aktinomyceten-, (Streptothrix) und 7 Eumycetenarten. Die Einwirkung ging in Bouillon oder Wasser, teils unter aëroben, teils unter anaëroben Bedingungen verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur vor sich. Die verwandten Mikroorganismen wurden sämtlich aus dem Boden der kgl. landw. Hochschule in Portici isoliert und durch Kultur auf sechs typischen Substraten näher bestimmt.

Die Zersetzung nahm zunächst den Gang einer Pektingärung, in anderen Fällen trat Auflösung der Cellulose hervor. Bacillen aus der Subtilis-Gruppe verhalten sich wie Pektingärer; ebenso Vertreter der Mesentericus-Gruppe, welche bei der Pektinauflösung vom Luftsauerstoff begünstigt werden. Eine Streptothrix war auf Coronilla-Blätter schwach wirksam, auf Kartoffelstücke wirkungslos. Unter 5 Megatherium-Rassen war eine einzige tätig. Coli-Bacillen sind besonders unter anaëroben Bedingungen wirksam. Sämtliche Kokken waren auf Coronilla-Blätter ohne Wirkung, Micr. aurantiacus griff zuweilen die Kartoffelstücke unter aëroben, wie unter anaëroben Bedingungen an.

Sämtliche Eumycetenarten waren wirksam; Sauerstoffgegenwart war für einige derselben günstig. Ihre Mycelien lösen ungeheuer schnell die Pektinstoffe, einige auch Cellulose auf; eine Aspergillus-Art griff auch die Kartoffelstärke an. Insgesamt war die Pilzwirkung bei der Zersetzung viel heftiger und schneller als die Bakterienwirkung.

E. Pantanelli (Rom).

Buß, Anton, Studien über Buttermilch. (Milch-Zeitung. Leipzig. Jahrg. XXXVIII. 1908. No. 1, 2, 3 und 4.)

Die vorliegende, sehr erschöpfende Studie bietet für den Milchfachmann sehr vieles Wissenswerte; für unsere speziellen Zwecke aber ist Einschränkung geboten, so daß hier nur der bakteriologische Teil zur Sprache gebracht werden kann. So sei hervorgehoben, daß von außerordentlichem Einfluß auf den Geschmack der Buttermilch die Behandlung des Rahmes und die Art und Reinheit der Rahmsäuerung ist. So

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

soll eine aus pasteurisiertem Rahm erhaltene Buttermilch einen reineren, volleren und kernigeren Geschmack geben als aus rohem Rahm erhaltene Buttermilch. Je reiner das verwendete Aussaatmaterial, desto reiner auch der Geschmack der Buttermilch. Treten beispielsweise zu gewissen Zeiten große Mengen peptonisierender Bakterien auf, dann werden die die normale Rahmreifung bewirkenden Mikroben aus der Gruppe der Milchsäurebakterien von ersteren überwuchert, der Käsestoff des Rahms wird teilweise gelöst und dabei gleichzeitig unangenehme Geruchs- und Geschmacksstoffe gebildet, welche dann der hieraus gewonnenen Buttermilch einen bitteren, seifigen, eventuell auch fauligen Geschmack verleihen. Ferner ist aber bestimmt nachgewiesen, daß auch stark aromatische Futterkräuter zur Bildung dieses Geschmackes ungünstig mitwirken können.

Bei den sehr exakt geführten Betrachtungen über mehr oder minder günstigen Ausfall verschiedenartiger Butterungsmethoden finden sich auch für den Bakteriologen interessante Angaben, von denen hervorgehoben sei, daß von ebensolcher Wichtigkeit, wie der genügende Säuregehalt des Rahmes für den Fettgehalt der daraus gewonnenen Buttermilch ist, so auch die Reinheit der Milchsäuregärung im Rahme selbst. Eine wichtige Rolle spielt hierbei das verwendete Futter; frischer Klee erzeugt in seinen Folgen einen nicht richtig reif werdenden Rahm, da solcher eine überragend große Menge von peptonisierenden Bakterien enthält gegenüber den die Rahmreifung hervorrufenden Milchsäurebakterien. Die peptonisierenden Bakterien verflüssigen den Käsestoff der Milch und erzeugen dabei Stoffe von mehr oder minder unangenehmem Geruch und Geschmack. Durch das starke Auftreten dieser Keimarten in Rahm wird die Entwickelung der Milchsäurebakterien gehemmt, so daß nur eine unvollkommene Säuerung und nebenher teilweise Verflüssigung des Käsestoffes stattfindet. Der löslich gemachte Käsestoff verursacht beim Buttern starke Schaumbildung, wodurch das Ausbuttern erschwert und eine sehr fetthaltige Buttermilch gewonnen wird, welche aber durch die bei der Peptonisierung nebenher erzeugten Stoffe einen bitteren, seifigen, eventuell sogar fauligen Geschmack annimmt.

Die sehr umfangreiche Arbeit bietet für die Praxis der Buttermilchherstellung sehr viele und wichtige Gesichtspunkte und sei das Studium des Originals hiermit dringend empfohlen. Rullmann (München).

Gorini, C., Ricerche sopra una grave malattia del formaggio Gorgonzola. (Rend. Accad. Lincei. Ser. V. Vol. XVII. 1908. I. Sem. p. 568—569.)

Die Krankheit ist den Gorgonzola-Fabrikanten als Teigkrankheit bekannt, weil der Käse an bestimmten Stellen weich und gelblich wird; hier entwickelt sich kein Penicillium, wodurch der Käse zähe und nicht handelsfähig wird. Dieses Uebel wird von Oidium lactis verursacht, welches sich unter noch unbekannten Bedingungen in dem Gorgonzola entwickelt. E. Pantanelli (Rom).

Küster, E., Keimung und Entwickelung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen. Vorläufige Mitteilung. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XXVI. 1908. p. 246—248.)

Verf. impfte die Nährlösung einer 9 Monate alten Kultur von Aspergillus niger mit Sporen neu, doch blieb die Keimung aus. Wurde aber die gebrauchte Lösung vorher gekocht, so erfolgte die

Keimung. Wurde die Pilzspecies gewechselt, so erfolgte das gleiche, z. B. eine 2 Monate alte Botrytis-Kultur mit Sporen von Mucor mucedo geimpft, ergab keine Keimung; wurde die Kultur vorher aber gekocht, so erfolgte reiche Mycelbildung. — Weitere Untersuchungen werden später veröffentlicht werden. Matouschek (Wien).

Herzog und **Ripke,** Notiz über die Umwandlung von Zimmtsäure in Styrol durch Schimmelpilze. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LVII. 1908. p. 1/2).

Oliviero hat 1906 mitgeteilt, daß Schimmelpilze — Aspergillus niger und Penicillium glaucum — aus Zimmtsäure Styrol zu bilden vermögen. Da diese Umwandlung biologisches Interesse bot, haben die Verff. die Angaben nachgeprüft. Sie konnten sie vollauf bestätigen. Weiter folgt, daß sich in der Natur Kohlenwasserstoffe wohl auf biologischem Wege aus Fettsäuren bilden können.

Mühlschlegel (Stuttgart).

Kossowicz, Alexander, Bakteriologische Untersuchungen über das Weichwerden eingesäuerter Gurken. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. XI. 1908. p. 894.)

In einer Konservenfabrik war schon öfters eine Störung aufgetreten, die ein anderes dort hergestelltes Produkt betraf, als deren hauptsächliche Erreger Verf. Vertreter der Mesentericus-Gruppe erkannt hat. Da eine weitere Uebertragung dieser Bakterien in größerer Menge auf andere Substrate schon durch die Art des Betriebes möglich erschien, und sich auch der Saft stark weichgewordener, gesäuerter Gurken reich an Mesentericus-Bakterien erwies, lag die Erwägung nahe, auch für das Weichwerden der Gurken selbst Kartoffelbacillen verantwortlich zu machen. Da diese Vermutung mit der Ansicht Aderholds, welcher das Weichwerden mit dem Bacterium coli in Verbindung bringt, in Widerspruch steht, so erschien es notwendig, zur Entscheidung experimentelle Untersuchungen vorzunehmen. Zu diesem Zwecke wurden 3 Liter-Glasgefäße mit Gurken gleicher Herkunft und Beschaffenheit unter Zusatz von trockenem Dillkraut und etwas Kren gefüllt und mit 6-proz. Salzwasser übergossen. Zwei Gefäße wurden mit 4 ccm sterilisierter Fleischsaftbouillon und je zwei folgende mit in der gleichen Menge Bouillon zu kräftiger Entwickelung gebrachten Reinzuchten von Bacillus mesentericus vulgatus, B. sinapivagus, B. atrosepticus v. Hall, Bact. coli und Bact. vulgare versehen. Alle 12 Gefäße wurden sofort fest verkorkt, verbunden und 46 Tage bei Zimmertemperatur unter 20° C gehalten. Es zeigten nun die Gurken in den mit Bouillon und den unter Zusatz von Bact. coli und Bact. vulgare gesäuerten Gefäßen eine feste, harte Konsistenz, während die unter Zusatz der genannten Bacillen gesäuerten Gurken ausgesprochen weich bezw. ziemlich weich waren. Bact. coli hat daher bei diesen Versuchen die Gurken nicht weich gemacht, obwohl es diese Erscheinung, wie Verf. speziell bei Oliven nachgewiesen hat, unter anderen Verhältnissen in Einsäuerungen betätigen kann. Da also die Wahrscheinlichkeit nahe lag, daß sich Kartoffelbacillen an dem Weichwerden der Gurken wenigstens mitbeteiligen dürften und Verf. schon früher die Beobachtung gemacht hat, daß diese durch aërobes Wachstum und hohe Optimaltemperatur sich auszeichnenden Bakterien gegen Knoblauchsaft sehr empfindlich sind,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

fanden Säuerungen in der Weise statt, daß Glasgefäße zunächst im Inneren mit Knoblauch ausgeschmiert, dann erst mit den Gurken, mit einem Stück Kren (ganze Krenstücke sollen das Weichwerden der Gurken erfahrungsgemäß einschränken), wenig Dillkraut und 6-proz. Salzwasser versetzt wurden. Je zwei Glasgefäße erhielten wieder nur sterile Bouillon, je zwei folgende Reinzuchten von Bac. mesentericus fuscus, B. mesentericus vulgatus und B. sinapivagus (Bac. mesent. sinapivagus) wurden hierauf möglichst luftdicht verschlossen und 62 Tage stehen gelassen. Nach dieser Zeit waren die Gurken aller Versuchsgefäße hart und wohlschmeckend. Gurken, die in der Fabrik in ähnlicher Weise in Fässern eingelegt und dem allgemeinen Brauch entgegen in der Kälte (im Keller) gehalten wurden, die tief unterhalb der Optimaltemperatur der in der Literatur als Organismen der Gurkengärung angeführten Bakterien liegen, zeigten sich durchwegs nach 5 bis 7 Wochen als gut gesäuert und hart. Der größere Knoblauchzusatz trägt dabei wesentlich zur Geschmacksverbesserung bei.

Stift (Wien).

Hayduck, F., Ueber Pilzgifte in Getreide, Würzen und Hefen und die Abhängigkeit ihrer Wirkung von Mineralsalzen. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1908. Heft 38. p. 1978.)

Gelegentlich eines in der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker in Jena 1908 gehaltenen Vortrags weist H. zunächst auf die eigenartige Giftwirkung bestimmter in den Roggen-, Weizen- und Gerstekörnern enthaltener Eiweißstoffe auf Bierhefe hin und schildert daran anschließend die Bemühungen zur Reindarstellung dieser interessanten Giftstoffe. Die beste Methode zur Extraktion des Giftstoffes aus dem Weizenmehl fand Verf. in der Behandlung des Mehls mit verdünnter Salzsäure (0,1-proz.). Ein solcher Auszug ließ sich im Verlauf einer halben Stunde herstellen und besaß nach der Neutralisation mit Natronlauge eine Giftwirkung gegen Bierhefe, welche an Intensität noch diejenige des unmittelbar mit der Hefe in Zuckerlösung zusammengebrachten Weizenmehls übertraf. Mit solchen Auszügen gelang es, die Bierhefe innerhalb von wenigen Minuten bei Gegenwart von Zucker quantitativ zu töten.

Verf. geht näher auf die bisherigen Beobachtungen über die chemische Natur der Getreidegiftstoffe ein, insbesondere ihre Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen, ihr Verhalten zu Mineralsalzen (entgiftende Wirkung der Kalksalze) und gegen die chemischen und physiologischen Einflüsse des Mälzens, Darrens und Maischens.

Im Gegensatz zu Henneberg, welcher annimmt, daß die Vergiftungserscheinungen in einer Säurebildung durch Hefe ihren Grund haben, es dadurch also gewissermaßen zu einer Selbstvergiftung der Hefe kommt, glaubt Verf., daß es sich um eine unmittelbare Giftwirkung auf die Hefe handelt.

Für obergärige Brennereihefen sind die Roggenmaischen ungiftig. In der Bäckerei kann es anscheinend unter Umständen (bei Mangel an Kalksalzen) zu einer Schädigung der Hefe im Teig kommen. Lange und Ellrodt haben beobachtet, daß bei Verwendung von Bäckereihefe wie von Bierhefe eine Verbesserung des Gebäckes erzielt wurde, wenn man dem aus destilliertem Wasser und Weizenmehl hergestellten Teig Kalksalze zusetzte. Verf. und Schücking konnten in den Würzen der untergärigen Brauerei keine Giftstoffe entdecken, es ergaben sich aber auch hier interessante Wirkungen des im Brauwasser enthaltenen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kalkes. Es gelang in Brauereien, die mit ungewöhnlich langer Gärzeit, schlechter Bruchbildung, mangelhaftem Absetzen der Hefe, lockerem Liegen der Hefensätze zu kämpfen hatten, diese Mängel durch Mitvermaischen von kohlensaurem Kalk zu beheben.

Verf. konnte aus getrockneter Bier- und Preßhefe wässerige Auszüge gewinnen, die bei Gegenwart von Rohrzucker eine intensive Giftwirkung auf Hefe ausüben. Es scheint daher, daß die Hefe nicht nur gefährdet ist durch die Eiweißgifte in den Rohstoffen, sondern auch durch Stoffe gleicher Art, die ihrem eigenen Organismus angehören oder sich aus ihm unter gewissen Umständen bilden. Vogel (Bromberg).

Jeanmaire, M. J., De la nocivité relative et temporaire de l'Amanita junquillea. (Bull. Soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 178—180.)

Verf. führt aus, daß Amanita junquillea nicht zu jeder Jahreszeit gleich gut eßbar ist. Als guter Speisepilz kann er gelten in vorgerückter Jahreszeit. Bei frühzeitigem Erscheinen dagegen (April-Mai) hat er unzweifelhaft toxische Wirkungen, wie Verf. wiederholt an sich selbst erfahren hat. Neger (Tharandt).

Peltereau, M., Etudes et observations sur les Russules. (Bull. trimestr. Soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 91—121.)

Allgemeine Bemerkungen über die Schwierigkeiten der systematischen Unterscheidung der Russula-Arten, über ihr Vorkommen, die Zeit ihrer Entwickelung, über ihre Verwendbarkeit als Speisepilze. Sodann folgt eine vergleichende Beschreibung der folgenden Arten:

R. cyanoxantha, aeruginea, graminicolor; R. cutifracta, amethystina, amoena; R. furcata; R. vesca; R. heterophylla; R. Quelitii, Drimaea; expalleus, sardonia, rubra; Arten der Gruppen: Emetica und Fragilis; R. alutacea, xerampelina olivascens; R. erythropoda; R. caerulea.

Neger (Tharandt).

Bataille, F., Notes sur quelques Russules. (Bull. Soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 172—177.)

Im Anschluß an die in der gleichen Zeitschrift erschienenen Beobachtungen Peltereaus über Russula-Arten macht Verf. Mitteilungen über Merkmale, Vorkommen etc. verschiedener Arten. Gruppenweise werden behandelt: R. cyanoxantha Quél., graminicolor Quél. und furcata Fr.; amoena Quél. und cutifracta Cooke; vesca Bres., rosea Quél. und liliacea Quél.; heterophylla Quél., Queletii Fr. und expallens Gil., rubra Quél., rosacea Fr. und sardonia Fr.; Clusii Fr. und rubicunda Quél; emetica Quél. und fragilis Pers.; xerampelina Schaef., alutacea Pers. und olivacea Schaef.

Neger (Tharand).

Atkinson, G. F., A parasitic Alga, Rhodochytrium spilanthidis Lagerheim in North America. (The Botan. Gazette. 1908. p. 299.)

Verf. fand auf Blättern von Ambrosia artemisiaefolia Rhodochytrium spilanthidis Lag., eine Alge, die von Lagerheim nur an Blättern von Spilanthes in Ecuador beobachtet war. Das äußere Krankheitsbild ist bei Ambrosia dasselbe, wie es Lagerheim von Spilanthes beschreibt. Auf den Blattstielen und an den Adern der Blätter sind zahlreiche rote Punkte, die Sporangien. Es wurden „temporary"- („Vermehrungs"-) und „resting"- („Dauer"-)Sporangien gefunden. Die Beschreibung des Parasiten stimmt mit der von Lagerheim gegebenen überein. Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Kauffmann, A contribution to the physiology of the Saprolegnaceae. (Annals of Botany. Vol. XXII. 1908. p. 361—387.)

Verf. erörtert die von Klebs und anderen Forschern angewendeten Methoden der Herstellung einer Reinkultur von Saprolegna-Arten und teilt dann den von ihm eingeschlagenen Weg mit. Er geht bei seinen Kulturen von einzelnen Sporen aus. Folgende Arten wurden zu den nachfolgend beschriebenen Versuchen verwendet:

S. hypogyna Pringsh., S. mixta De Bary (in 2 Formen), Saprolegna sp., Pithyopsis sp. und Aphanomyces laevis. Bei der Versuchsreihe, welche den Einfluß der Ernährung auf die Ausbildung der vegetativen und reproduktiven Organe zeigen sollte, ergab sich eine volle Bestätigung der von Klebs aufgestellten Gesetze.

Nicht alle Saprolegna-Arten bilden unter den gleichen Bedingungen wie S. mixta und S. hypogyna Sexualorgane; sie sind dadurch physiologisch wie morphologisch wohl charakterisiert.

Eine weitere Versuchsserie zeigte, daß es möglich ist bei Arten, welche bisher als der Antheridien entbehrend bekannt waren, die Bildung von Antheridienästen zu veranlassen, welche dem normalen Typus anderer Arten durchaus entsprachen, nur daß die Bildung dieser Organe bedingt ist durch die Anwesenheit gewisser anorganischer Salze (K_3PO_4, KNO_3, Na_2HPO_4, $Ca_3(PO_4)_2$ und $CaNO_3$).

Die Antheridialfäden entstehen bei allen untersuchten Arten je nach den Kulturbedingungen diklin oder androgyn; die Art ihrer Entstehung hat daher nicht den Wert eines diagnostischen Merkmals. Heterothallische Arten scheinen bei den Saprolegnaceen nicht vorzukommen.

Fast alle Merkmale unterliegen weitgehenden Schwankungen, was die spezifische Unterscheidung der Formen sehr erschwert. Eine solche ist nur durchführbar, wenn für die einzelnen Arten die Merkmale unter jeweiliger genauer Angabe der chemischen und physikalischen Lebensbedingungen aufgestellt werden. Werden diese genau eingehalten, dann ist es auch möglich, eine bestimmte Art zu identifizieren bezw. zu bestimmen.

Die große Aehnlichkeit, welche gewisse konstante Formen miteinander erkennen lassen, legt die Vermutung nahe, daß innerhalb der Gattung Saprolegna zahlreiche Elementararten im Sinne von De Vries auftreten.

Den Schluß der Abhandlung bildet eine Betrachtung über den Einfluß äußerer Faktoren auf die Geschlechtsbestimmung.

Neger (Tharandt).

Mücke, M., Zur Kenntnis der Eientwickelung und Befruchtung von Achlya polyandra De By. (Berichte der Deutschen Botan. Gesellsch. Bd. XXVIa. 1908. p. 367—378. Mit 1 Doppeltafel.)

Die Aufgabe, welche sich Verf. gestellt hat, ist die Beantwortung folgender Fragen: 1) Finden (bei A. polyandra) eine oder zwei Kernteilungen statt?

2) Sind die Bedingungen für eine regelrechte Befruchtung durch Eintritt eines Antheridialkernes in das Ei gegeben?

Ueber den ersteren Punkt gingen die Ansichten insofern auseinander, als Davis und Claussen bei Saprolegna eine, Throw dagegen zwei Kernteilungen im Oogon gefunden hatten. Die Resultate des Verf. bestätigen den Befund von Davis und Claussen, so daß also in dieser Hinsicht kein Unterschied besteht zwischen Saprolegna und Achlya.

Auch in anderen Punkten der Entwickelung der Geschlechtsorgane stimmen beide Gattungen überein.

Weiterhin beobachtete Verf. den Uebertritt des männlichen Kerns in das Ei und das Verschmelzen der Sexualkerne, womit die Bedingungen für einen Geschlechtsakt gegeben sind. Damit ist allerdings noch nicht gesagt, daß Davis' Angaben über Zweikernigkeit der Eier und Asexualität nicht zu Recht bestehen, da Davis, wie er selbst sagt, nur apogame Formen vorgelegen haben. Neger (Tharandt).

Sydow, H. et P., Ueber eine Anzahl aus der Gattung Uromyces auszuschließender resp. unrichtig beschriebener Arten. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 135—143.)

Bei den Vorarbeiten für den Bd. II der „Monographia Uredinearum" der Verff., welche die Gattung Uromyces bringen wird, fanden Verff., daß ein großer Prozentsatz der von verschiedenen Autoren aufgestellten Arten gar nicht zu dieser Gattung gehört, teils aber nur Uredoformen darstellt. Einige dieser Formen sind als Mesosporenformen (Uromyces tataricus Lindr.), andere als Amphisporenformen von Puccinia zu betrachten (Urom. simulans Peck), andere sind typische Puccinien (Uromyces Costi Henn.), andere endlich gehören überhaupt nicht zu den Uredineen (Urom. hemisphaerica Speg.). Oft wurden Uredosporen für Teleutosporen gehalten, und zwar sehr hartnäckig bis in die jüngste Zeit. — Die einzelnen Arten aufzuzählen geht nicht an.

Matouschek (Wien).

Fischer, Ed., Infektionsversuche mit Rostpilzen. (Separatabdruck aus den Mitteil. d. naturforsch. Gesellsch. in Bern aus dem Jahre 1908.)

Auf Homogyne alpina findet sich in den Schweizer Voralpen außer den Teleutosporen von Puccinia conglomerata (Strauss) Kze. et Schm., welch letztere vom Verf. schon vor einer Reihe von Jahren als Micropuccinia erkannt wurde, gelegentlich auch ein Aecidium: Aecidium Homogynes Schroet.

Durch Beobachtungen am natürlichen Standorte dieses Pilzes kam Verf. auf die Vermutung, daß dieses Aecidium zu Uromyces Veratri gehöre. Impfversuche mit Uromyces-Teleutosporen von Veratrum album ergaben dann auch wirklich reichliche Infektionen von Homogyne alpina.

Damit ist der Beweis geleistet, daß das Aecidium Homogynes in den Entwickelungskreis von Uromyces Veratri gehört. Dieser auf Homogynes übergehende Uromyces Veratri scheint aber nicht identisch zu sein mit demjenigen auf Adenostyles aus Tranzschels Versuchen; da morphologische Unterschiede zwischen den Teleutosporen dieser beiden Formen nicht nachgewiesen werden konnten, müssen die beiden als biologische Arten auseinandergehalten werden.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Hariot, P., Les Urédinées. (Bibliothèque de botanique cryptogamique.) 387 pp. Mit 47 Figuren. Paris (Oct. Doin) 1908.

Das Werk ist ein Band der Encyklopédie scientifique und bringt uns eine zusammenfassende kritische Bearbeitung der Uredineen Frankreichs, wie sie bisher vermißt wurde. Nach dem allgemeinen Teile, der sich mit der Stellung dieser Pilzgruppe, mit der Anatomie, Morphologie und insbesondere mit der Biologie, aber auch mit der Systematik bezw. Klassifikation beschäftigt, wird im speziellen Teile auf die wirklich in Frankreich gefundenen Arten eingegangen, wobei aber auch Arten notiert werden, deren Nährpflanzen dort leben, die aber bisher auf diesen noch nicht nachgewiesen wurden. Da zwischen den ersteren und den letzteren Arten kein Unterscheidungsmerkmal (etwa im Drucke oder durch Sternchen) gegeben ist, erscheint die Zahl der in Frankreich „vorkommenden" Arten eine sehr große. **Neu** beschrieben wird Uredo Coleanthi (auf Coleanthus subtilis) und U. Sclerochloae auf Sc. dura. Die heteröcischen Arten werden nach ihren Wirtspflanzen zusammengefaßt und auch besondere Kapitel den Pflanzenkrankheiten, die in Betracht kommen, den Deformationen und der Kultur der Pilze gewidmet. Matouschek (Wien).

Krieg, W., Ueber die Ursachen der Spezialisation und die Entstehung des Wirtswechsels bei den Uredineen. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. N. F. Bd. VII. 1908. p. 561—573.)

Durch den regelmäßigen Wechsel eines zweikernigen (Aecidiospore) mit einem einkernigen Zustande (Basidiospore) sind die Uredineen sehr scharf charakterisiert. Man hat es mit einem richtigen Generationswechsel zu tun, bestehend aus Gametophyt und Sporophyt. Modifikationen des Entwickelungsganges entstehen dann, wenn von den fünf Sporenformen einer Eu-Form einzelne nicht gebildet werden. In einem sehr deutlichen Schema wird dies bei den Opsis-, Brachy-, Mikro- und Leptoformen illustriert. Nach Erläuterung der Ansichten von Fischer, Magnus, Klebahn, Tranzschel kommt Verf. auf die Bedeutung der de Vriesschen Mutationstheorie zu sprechen und stellt folgende Punkte als wichtig für die Erklärung des Befallens neuer Wirte durch einen Rostpilz auf: 1) die große chemische Verwandtschaft des Plasmas (oder von dessen flüssigen Einschlüssen bezw. Ausscheidungen) der neuen Nährpflanzen mit dem der bisherigen, 2) die Mutation. Für die Spezialisation kommen in Betracht: 1) die Angewöhnung der Rostpilze, die ursprünglich ohne Auswahl mehrere Nährpflanzen bewohnten, an einen engeren Kreis von Wirten oder an einzelne Species, und 2) das Befallen neuer Nährpflanzen und die nachträgliche Beschränkung auf einzelne derselben. Wie hat man sich nun die Entstehung des Wirtswechsels vorzustellen? Gegenüber der bekannten Ansicht von Ed. Fischer entwickelt Verf. folgende Hypothese: Die ursprüngliche Plurivorität ist auf eine einzige Gattung, höchstens vielleicht auf die betreffende Familie, beschränkt. Für die Entstehung der Heteröcie und für die Ausdehnung des Nährgebietes wird die Mutationstheorie in Anspruch genommen. Ein einziger Punkt scheint mit dieser Hypothese des Verf. in Widerspruch zu stehen: Da der Pilz in der Mutationsperiode die Fähigkeit hatte, in der Teleutosporengeneration auf beliebige Pflanzen überzugehen, warum wählte die Uredo-Teleutosporenform fast ausschließlich (Ausnahme Uromyces Rumicis) die Gräser? Aber die Gräser kommen ja überall vor, und bei Mangel an anderen Pflanzen, die für den Parasiten ein günstiges Substrat geliefert hätten, wurden eben hauptsächlich die Gräser befallen. Zweckmäßigkeits-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gründe für die Entstehung der Heteröcie anzunehmen, empfiehlt sich entschieden nicht, da vor dem Uebergange der einen Generation auf einen neuen Wirt der Pilz nicht „wissen“ konnte, ob die veränderte Lebensweise für ihn vorteilhaft sei oder nicht. Wie steht es endlich mit der Ableitung der Formen und mit der Stammform der heutigen Uredineen? Die rezenten Mikro- und Leptoformen, sowie die Heteroarten sind von Aut-Eu- oder von Opsisformen abzuleiten. Diese Stammformen besaßen eine beschränkte Plurivorität, so daß z. B. die Vorfahren der Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces sämtliche Sporenformen auf beliebigen Ranunculus-Arten bilden konnten. Zu einer gewissen Zeit, die wahrscheinlich in eine Mutationsperiode des Pilzes fällt, ging bei Bewohnern tieferer Lagen die Uredo-Teleutosporenform auf Dactylis glomerata, außerdem noch auf andere Gräser, namentlich Poa-Arten, und auf Rumex über, während auf den in der Nähe der Schneegrenze wohnenden Ranunculus-Arten die Aecidio- und größtenteils die Uredosporen verschwanden; ebenso kamen auf früh absterbenden Ranunculus-Arten (R. ficaria) die Aecidio- oder Uredosporen in Wegfall oder es siedelte die Uredo-Teleutosporengeneration mancherorts auf Rumex, meist aber auf Poa-Arten über. Es entstanden die heteröcischen Arten so in der Ebene, in tieferen Lagen und häufiger in alpinen Lagen die Brachy-, Mikro- und Leptoarten. Durch nachfolgende „Gewöhnung“ an bestimmte Nährpflanzen oder Nährpflanzengruppen bildeten sich die spezialisierten Formen aus. Woher sind die autöcischen Stammformen der rezenten Uredineen abzuleiten? Nach Brefeld gingen die Uredineen aus den Hemibasidien hervor, welche quergeteilte Basidien (= Konidienträger) besaßen. Dauersporen von der Art der Ustilagineen sind die einzig vorhandene Sporenform der Uredineenvorfahren, da diese als den Teleutosporen der Uredineen homologe Gebilde anzusehen sind. Der Kernübertritt bei der Anlage der Aecidien ist ein Ueberrest der isogamen Sexualität der Zygomyceten. Das Hinzutreten der Aecidiosporen wird als eine vollkommenere Anpassung der den Ustilagineen ähnlichen Stammformen der Rostpilze an den Parasitismus zu deuten sein; von dieser Zeit an kann man erst von Uredineen im heutigen Sinne sprechen. — Welche Nachteile konnte die Vermehrung der Zahl der Sporenformen für den Parasiten bringen? Die Ausbildung aller Sporenformen verlangte 1) eine Verlängerung der Entwickelungszeit des Pilzes, 2) hatte sie eine verstärkte Schädigung des Wirtes zum eigenen Nachteile des Schmarotzers zur Folge. Diese Nachteile mochten mithelfen, eine Trennung der Mycelien auf zwei verschiedene Nährpflanzen (also einen Wirtswechsel) herbeizuführen. Auf den Vorteil einer vermehrten Sporenproduktion mußten Pilze an Orten mit kurzer Vegetationszeit ganz oder fast ganz verzichten. Der autöcische Zustand ist also eine vorübergehende Erscheinung in der Phylogenie der Uredineen.

Man sieht, die Arbeit bietet viel des Interessanten und entwirft uns ein deutliches Bild von der Abstammung und Weiterentwickelung der Uredineen. Matouschek (Wien).

Probst, R., Infektionsversuche mit Kompositen bewohnenden Puccinien. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 289—300.)

Diese Untersuchung bildet eine Ergänzung und Erweiterung der Beobachtungen Jackys über die Kompositen bewohnenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii etc. Verf. gelangte zu folgenden Resultaten:

1) P. Leontodontis von L. hispidus wächst nur auf L. hispidus, geht nicht auf Hieracien- und Hypochoeris-Arten über, auch nicht auf andere Leontodon-Arten, scheint also auf L. hispidus spezialisiert zu sein; daneben gibt es wahrscheinlich spezialisierte Formen der P. Leontodontis, welche nur L. autumnalis bezw. L. pyrenaicus befallen. Da P. Leontodontis f. sp. hispidi auf L. incanus und L. hirsutus sehr schwach Infektionen bewirkte, so nimmt Verf. an, daß es sich im vorliegenden Fall um ein im Schwinden begriffenes Infektionsvermögen handle.

2) P. Hypochoeridis von H. radicata ist auf diese Pflanze spezialisiert und vermag nicht Hieracien oder Leontodon-Arten zu infizieren; auch eine andere Hypochoeris-Art (H. aetnensis) blieb gesund. Ebenso ist auch der von Bubak von P. Hypochoeridis als P. montivaga abgetrennte Pilz auf H. uniflora als besondere Art zu betrachten, wie aus einem Infektionsversuch des Verf. hervorgeht, bei welchem keine andere Hypochoeris-, noch auch irgendeine Hieracium- oder Leontodon-Art infiziert wurde.

3) Die auf Carduus crispus lebende Puccinia vermag auch C. personata — wenn auch schwächer — zu infizieren, ist hingegen verschieden von der auf Carduus defloratus lebenden Puccinia. Letztere infiziert nicht C. crispus und C. personata. Wohin die auf C. nutans lebende Puccinia gehört, konnte noch nicht entschieden werden; vielleicht stellt sie eine selbständige Art dar.

Neger (Tharandt).

Tubeuf, K. v., Hexenbesen von Prunus Padus. (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtsch. 1908. Heft 7. p. 372.)

Verf. fand in der Hirschau bei München die relativ seltene Erscheinung eines Hexenbesens an Prunus Padus. Da einige Kirschbäume mit mächtigen Hexenbesen in der Nähe standen, glaubt Verf. als Erreger des Hexenbesens an Prunus Padus den des Kirschenhexenbesens betrachten zu dürfen. Der Pilz scheint aber in Prunus Padus sein normales Gedeihen nicht zu finden.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Merker, G., Die Mistel auf der Fichte. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtsch. 1908. Heft 7. p. 364.)

Verf. bringt Photographie und Beschreibung einer Fichtenmistel, die bei Weitenegg nächst Melk in Niederösterreich gefunden wurde. Die Blätter dieser Mistel sind auffallend schmal. Da die Föhrenmistel dort nicht selten ist, so hält Verf. die Uebertragung von Föhre auf Fichte für sehr wahrscheinlich.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Engler, A. und **Krause, K.,** Ueber die Lebensweise von Viscum minimum Harvey. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XXVI a. 1908. p. 524—530. 1 Taf. 2 Textabbildungen.)

Eine vorzüglich und reich illustrierte Beschreibung dieser interessanten, zwergigen Mistelart, die hauptsächlich die Furchen des Stammes von Euphorbia polygona Harvey besiedelt. Diese kapländische Viscum-Art ist in viel höherem Grade parasitisch als alle anderen Arten. Der extramatrikale Teil der Pflanze ist eigentlich auf Blüten- und Fruchtstände reduziert. Die primäre Achse ist höchstens 1 mm lang und trägt 2—3 dichtgedrängte Paare 1 mm breiter, aber nur 0,5 mm

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

langer, halbeiförmiger Schuppenblätter, aus deren Achseln sekundäre Sprosse entspringen, welche meist nur ein Blattpaar und zwei Blüten tragen. Sehr reich ist der intramatrikale Teil in Form von Saugsträngen entwickelt, die sich vielfach zu Maschen vereinigen und nicht nur die Rinde, sondern durch die Markstrahlen eindringend, auch das Mark durchsetzen. Diese Saugstränge haben in der Achse einen Komplex von Spiraltracheiden, an welche unmittelbar ein gleichartiges Parenchym grenzt; Leptom ist keines differenziert. Das Parenchym ist sehr reich an Stärke und Oel, welche Stoffe ohne Zweifel aus der Wirtspflanze stammen, da nur der extramatrikale Teil spärlich Chlorophyllkörner führt. Das Hadrom der Saugstränge tritt mit demjenigen der Wirtspflanze nirgends in Verbindung; die von ihm geleitete Flüssigkeit muß durch das umgebende Parenchym aus dem Grundgewebe der Wirtspflanze geschöpft werden. Interessant ist es, daß von den in der Rinde verlaufenden Strängen Aeste nach außen vordringen können und die Oberfläche erreichend, neue Vegetationspunkte bilden. Heinricher (Innsbruck).

Kusano, S., On the parasitism of Siphonostegia (Rhinantheae). (Bulletin of the College of Agriculture, Tokyo Imperial University. Vol. VIII. 1908. No. 1. p. 7. 5 Fig.)

Verf. setzt mit dieser und der folgenden Arbeit seine verdienstlichen Studien über die parasitischen Samenpflanzen Japans fort. In dieser behandelt er die Haustorien der Rhinanthee Siphonostegia und konstatiert wesentliche Abweichungen von dem so einheitlichen Bau derselben bei den europäischen Gattungen. So fehlt im Kern des Haustorialknopfes das „hyaline Gewebe“ und an seiner Stelle tritt ein ± kompakter Tracheidenkomplex auf, und weiter soll ein Haustorialfortsatz kaum angedeutet sein. Die Auffassung des erwähnten Tracheidenkomplexes als einer der Wasserspeicherung und der Regulierung der Wasserbilanz zwischen Wirt und Parasit dienenden Einrichtung dürfte das Richtige treffen. Der Nachweis des Haustorialfortsatzes wird, falls Siphonostegia wirklich eine Rhinanthee ist, nach Ansicht des Ref. an jungen Haustorien wohl noch gelingen. Für fraglich hält Ref. die Berechtigung der Unterscheidung von lateralen und terminalen Haustorien. Seinen Untersuchungen nach existieren bei allen Rhinantheen nur laterale Haustorien, und es spricht für eine etwas flüchtige Behandlung der Literatur, wenn Verf. bei der Erwähnung der terminalen Haustorien Lathraea und des Ref. Arbeit zitiert, als ob auch Ref. terminale Haustorien unterschieden hätte. Ebenso fällt es auf, daß Lathraea, wieder unter Zitierung von des Ref. Arbeit[1]), als Orobanchee bezeichnet wird, um so mehr, als an genannter Stelle ein eigenes Kapitel (VIII) der systematischen Stellung von Lathraea gewidmet ist, in dem alle Momente zusammengetragen erscheinen, die Lathraea als Rhinanthee erweisen und ihre fälschliche Einbeziehung zu den Orabancheen beleuchten.

Heinricher (Innsbruck).

Kusano, S., Further studies on Aeginetia indica. (Bull. of the College of Agriculture. Tokyo Imperial University. Vol. VII. 1908. No. 1. p. 20. 1 Taf.)

Die recht interessante Abhandlung beschäftigt sich mit der Embryologie und den Keimungsbedingungen der im Titel genannten Orobanchee. Die kleinen Samen gleichen vollkommen jenen von Orobanche und besitzen wie diese nur einen wenigzelligen, undifferenzierten Embryo. Be-

---

[1]) Anatomischer Bau und Leistung der Saugorgane der Schuppenwurzarten. Breslau (J. U. Kern) 1895. (Aus Cohns „Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. VII.)

Digitized by Google — Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

fremdlich wirkt, daß der Verf. — der, wie im vorigen Ref. bemerkt, Lathraea fälschlich zu den Orobancheen einbezieht, bei dem Vergleich mit dem Embryobau dieser (auf den er eingeht) auf die Unwahrscheinlichkeit einer systematischen Zusammengehörigkeit der beiden Gattungen nicht aufmerksam wird.

Die Keimung zeigt einen von Orobanche abweichenden und ganz eigenartigen Verlauf. Die ersten Anzeichen derselben bestehen in einer beträchtlichen Volumzunahme der am Radikularende des Embryos gelegenen Zellen, wodurch die Testa gesprengt wird. Diese Zellen wachsen dann papillös aus und werden schließlich zu eventuell gegliederten auch verzweigten Haaren, die Wurzelhaare der Wirtspflanze rankenartig umfassen und überhaupt die erste Befestigung des Keimlings an der Wirtswurzel übernehmen. Diese „hair-tendrils" erinnern einigermaßen an die Haarbildung der jungen Haustorien der Rhinanthaceen, die auch die erste Befestigung, die der Bildung des Haustorialfortsatzes vorangeht, übernehmen. Dies trifft um so mehr zu, als auch bei Aeginetia der durch die „hair-tendrils" ausgezeichnete Pol des Embryo zum primären Haustorium entwickelt wird.

Ueber die Keimungsbedingungen wird festgestellt: 1) In Wasser, in der feuchten Kammer, in Erde allein keimen die Samen nicht. Sie werden dazu erst durch die Wurzel einer höheren Pflanze angeregt. 2) Während hierzu Wurzeln von Gefäßkryptogamen, Gymnospermen und Angiospermen genügen, findet eine Weiterentwickelung der Keimlinge jedoch nur statt, wenn Wurzeln gewisser Gattungen der Monokotylen ergriffen wurden. 3) Die Keimung anregende Substanz ist unbekannt, scheint aber von den Wurzeln aller höheren Pflanzen gebildet zu werden. 4) Zwei Jahre trocken aufbewahrte Samen haben ihr Keimungsvermögen eingebüßt. 5) Zellvermehrung im Embryo tritt erst dann ein, wenn die Befestigung an einer Nährpflanze vollzogen ist. 6) Der Keimling wächst dann zu einem knolligen Gebilde unter Vermittelung eines Meristems, das unterhalb der „hair-tendrils" auftritt. 7) Die Knolle differenziert sich dann in das primäre Haustorium den Stamm- und das Wurzelsystem, welche letztere aus dem plumularen Ende des Embryos hervorgehen.

Heinricher (Innsbruck).

Falck, Richard, Neue Mitteilungen über die Trockenfäule. (Vortrag, gehalten in der XIV. Generalversammlung des Vereins Ostdeuscher Holzhändler und Holzindsturieller in Berlin am 27. Oktober 1898. Sonderabdruck aus dem Jahresbericht des Vereins ostdeutscher Holzhändler und Holzindustrieller. 1908. 18 pp.)

Nach der Art, wie sie das Holz angreifen, lassen sich alle holzzerstörenden Pilze in zwei Typen teilen. Bei der häufigsten Zersetzungsart wird die Holzsubstanz an der Oberfläche befallen, von den spinngewebeartigen oder watteförmigen Mycelien äußerlich bewachsen und dann von außenher auch innerlich zerstört. Bei dem zweiten Typus bleiben die Oberflächen intakt, die (meist trockene) Zersetzung beginnt im Innern der Holzsubstanz und schreitet bis zur Vermorschung fort ohne daß vegetative Mycelien weder innen noch außen sichtbar zutage treten. Bei der Trockenfäule der Häuser treten beide Zersetzungen häufig gemeinsam auf und wurden von den Sachverständigen auf dieselbe Pilzart, den Polyporus vaporarius zurückgeführt. Verf. hat nachgewiesen, daß dies falsch ist, daß die innere mycellose Zersetzung des Holzes, die er daher Lenzitesfäule nennt, hauptsächlich durch verschiedene Arten von Lenzites herbeigeführt wird. Der bisherige Be-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

griff der „Trockenfäule" umfaßt die verschiedensten Typen von Zersetzungserscheinungen.

Die typische Lenzitesfäule erfolgt nicht von Holz zu Holz oder vom Erdboden aus, sondern immer nur durch die Luft vermittelst der Lenzites-Sporen, wie Experimente bewiesen, und zwar erfolgt die Ansteckung der Hölzer immer erst in bearbeiteten und ausgetrocknetem Zustande von den nach der Entrindung beim Austrocknen entstehenden Risse und allerfeinsten, dem Auge kaum sichtbaren Spalten aus. Die Sporen werden mit dem Regenwasser durch Kapillarkräfte weit in das Innere des Spaltensystems verteilt. Die Lenzites-Infektion erfolgt also gerade bei dem luftigen Stapeln der Hölzer. Den Mycelien und Fruchtkörpern kommen dabei drei physiologische Eigenschaften zugute: die Fähigkeit zur Trockenstarre — sie können jahrelang Trockenperioden lebend überdauern —, das Vermögen unmittelbarer Wasseraufnahme — sobald sie vom Regen durchnäßt werden, funktionieren sie weiter — und drittens ihre hohen Temperaturwerte des Wachstums (Optimum und Maximum des Mycelwachstums liegen bezw. bei 30° und 42°, viel höher als bei anderen auf toter Holzsubstanz lebenden Holzzerstörern). Da die Fäule auf Holzplätzen bei Balken von ungangbaren Dimensionen, wenn sie 1—2 Jahre lagern, zutage tritt, bezeichnet man sie im Westen Deutschlands als Lagerfäule; in der Regel erreicht sie aber, wenn die Hölzer bald abgesetzt werden, noch nicht den Grad der Zerstörung, der sich dem Laien äußerlich bemerkbar macht und das betreffende Stück als unbrauchbar kennzeichnet.

Verf. hat weiter durch eingehende Untersuchung trockenfauler Wohnungen nachgewiesen, daß bei dem Auftreten der sogenannten Trockenfäule in den Häusern die Ansteckungsherde besonders feuchte Stellen sind, besonders die an die Fensterwände anstoßenden Balkenköpfe. Ein Vergleich der Wasseraufnahme und -abgabe in gesundem Balkenholz der Tannen und in lenzitesfaulem Tannenholz ergab, daß bei letzterem die Wasseraufnahme sehr schnell erfolgt. Ein Stück von 5 kg Gewicht nahm in 38 Stunden 3500 g Wasser, also 67 Proz. des Trockengewichtes auf, gesundes Holz von gleichem Gewicht nur 1000 g, d. h. 21 Proz. des Trockengewichtes. Die Wasserabgabe erfolgte sehr langsam. Es waren etwa 2 Monate nötig, bis der Wassergehalt, der in 38 Stunden erzeugt wurde, wieder auf den ursprünglichen Prozentsatz zurückging. Ludwig (Greiz).

Volkhart, Die Trockenfäule der Kartoffeln. (Separatabdruck aus Schweiz. landw. Zeitschr. 1908. Heft 2.)

Verf. beschreibt eine Krankheit der Kartoffelpflanze, die in ihrem Anfangsstadium große Aehnlichkeit mit der Bakterienringkrankheit (Verfärbung der Knolle) aufweist. Als Krankheitserreger wurde ein ausschließlich unterirdisch und im Innern der Pflanze lebender Pilz, Fusarium oxysporum festgestellt. Er durchwuchert das Wurzelwerk der befallenen Staude, in das er meist aus der kranken Saatknolle oder auch von außen her durch Verwundung eindringt. Impfungsversuche auf gesunde Knollen hatten positiven Erfolg. Als äußerlich wahrnehmbares Krankheitssymptom tritt mit zunehmender Zersetzung der Wurzeln Verfärbung und Einrollen der Blätter ein, im weiteren Verlauf der Krankheit welken die Triebe und sterben ab.

Als Bekämpfungsmittel wird in erster Linie sorgfältige Auslese des Saatgutes empfohlen. Schaffnit (Bromberg).

Schander, Kartoffelkrankheiten. (Illustr. landwirtsch. Zeitung. Jahr. XXVIII. 1908. No. 93.)

Verf. behandelt die von Appel als Bakterienringkrankheit und Blattrollkrankheit bezeichneten pathologischen Erscheinungen der Kartoffelpflanze. Die von Appel angegebene Knollendiagnose bietet keine genügende Sicherheit für das Vorhandensein der als Krankheitserreger in Betracht kommenden Mikroorganismen, man muß sich vielmehr vorerst darauf beschränken, die Krankheit an der Staude festzustellen. Aus den bis jetzt erst im Anfangsstadium vorliegenden Untersuchungen sind folgende Konsequenzen für die Praxis zu ziehen:

1) Auswahl gesunder großer Knollen als Saatgut.
2) Entfernung aller erkrankter Stauden vom Felde.
3) Eine Zuchtwahl, welche auf die gesündesten und ertragreichsten Stauden zurückgreift. Schaffnit (Bromberg).

Stift, A., Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Wiener landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 980.)

Die Blattrollkrankheit ist keine neu beobachtete Erscheinung, da in ihr nach Appel und Kreitz eine Form der in gewissen Zeiten gefürchteten Kräuselkrankheiten zu sehen ist. Wenn sie auch in früheren Jahren in mehr oder minder heftigem Grade aufgetreten ist, so hat sie aber doch zu allgemeinen Besorgnissen keinen Anlaß gegeben. Dies hat sich jedoch mit einem Schlag geändert, als Arnim anfangs 1908 unter dem Titel „Europas Kartoffelbau in Gefahr“ eine Mitteilung veröffentlicht hat, in welcher er sich dahin ausspricht, daß, hauptsächlich durch die Blattrollkrankheit veranlaßt, in ganz Deutschland — mit Ausnahme einiger unbekannt gebliebener Oasen und einiger Neuzüchtungen, die den Bedarf an Pflanzmaterial nicht decken können — gesunde Kartoffeln, vor allem aber Pflanzkartoffeln fehlen, so daß also nach dem ganzen Stand der Frage der Kartoffelbau als solcher bedroht ist. Die Ausführungen Arnims haben nun sowohl in den Kreisen der Wissenschaft, als auch in denjenigen der Praxis ungewöhnliches Aufsehen erregt und zu einer großen Anzahl von Publikationen Anlaß gegeben, auf deren wichtigste Verf. in Kürze eingeht, um damit den bisherigen Stand der Frage zu kennzeichnen. So wie die Verhältnisse jetzt liegen, sind die Ansichten über das Wesen der Krankheit noch sehr geteilte, so daß diesbezüglich der Wissenschaft noch ein weites Feld für ihre Tätigkeit offen bleibt. In Deutschland hat das Auftreten der Krankheit eine Anzahl von Instituten veranlaßt, sich mit ihr zu beschäftigen und sie durch nach einem einheitlichen Plane ausgeführte Versuche zu bearbeiten und zu studieren. Diese Institute sind: Kaiserl. Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, die landwirtschaftliche Versuchsstation in Münster in Verbindung mit der landwirtschaftlichen Schule in Hagen in Westfalen, die Abteilung für Pflanzenkrankheiten am Kaiser Wilhelm-Institut für Landwirtschaft in Bromberg und die Kgl. bayerische agrikultur-botanische Anstalt in München. In Oesterreich hat die k. k. Pflanzenschutzstation in Wien ausgedehnte Umfragen über das Vorhandensein der Blattrollkrankheit und über deren mögliche Bekämpfung eingeleitet. Autoreferat.

Guinier, Ph. et **Maire, R.,** Sur l'orientation des réceptacles des Ugulina. (Bull. Soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 138.)

Verf. führt einige Fälle an, welche zeigen, daß die Ausbildung des Receptaculums bei Ugulina- (Polyporus-)Arten durch den Geotropismus stark beeinflußt ist. In einem Fall wurde ein Fruchtkörper von U. pinicola beobachtet, welcher aus zwei Rezeptakeln besteht, die beide eng miteinander verbunden sind, und von welchen das eine senkrecht zum anderen orientiert ist. Ursache dieser Erscheinung war die Veränderung (Drehung um 90°) der Lage des Stammes, an welchem der Pilz saß. Der zweite Fall betrift U. fomentaria. Auch hier bestand der Pilz aus zwei Fruchtkörpern, welche nacheinander gebildet und so orientiert waren, daß das eine Hymenium senkrecht auf dem anderen stand. Der erste Fruchtkörper hatte sich am stehenden, der zweite am liegenden Stamm ausgebildet. Neger (Tharandt).

Maire, René, Les suçoirs des Meliola et des Asterina. (Annales Mycologici. Vol. VI. 1908. p. 124—128. 4 Fig.)

In den Tropen kommen bekanntlich zahlreiche Vertreter der Gattungen Meliola und Asterina auf den lebenden Blättern vieler Pflanzen vor, auf welchen sie meist ausgebreitete Mycelkrusten bilden. Nach Bornet und Gaillard sollen diese Mycelien nicht in das Innere der Blattsubstanz eindringen, sondern sich vollkommen oberflächlich entwickeln. Verf. weist nun nach, daß diese Meinung nicht zutreffend ist, da die Vertreter beider Gattungen in die Blattzellen Haustorien entsenden, welche bei Meliola eine sehr einfache und konstante Form haben, bei Asterina jedoch komplizierter gebaut sind und je nach der Species variieren. Die Arten beider Gattungen müssen daher als wirkliche Parasiten angesehen werden. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Ugrenović, A., Waldinsektenschäden in Slawonien. (Oesterreichische Forst- und Jagdzeitung. Jahrg. XXV. 1907. No. 29. p. 237. Mit 2 Photographieen.)

Die Beobachtungen beziehen sich nur auf die Drauebene und zeigen Fälle von sonderbarer Unterscheidungsgabe der Insekten. Raupen von Porthesia chrysorrhoea ließen Büsche von Loranthus europaeus auf Stieleichen unberührt. Verschont blieben noch Evonymus europaeus- und Ulmus-Blätter, die mit Tetraneura ulmi-Gallen befallen sind. Die nahen Rosen-, Weißdorn- und Hainbuchensträucher wurden stets kahlgefressen. Matouschek (Wien).

Lüstner, Gustav, Beobachtungen über das Auftreten von Pflanzenläusen auf den Früchten der Kernobststämme. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheit. Bd. XVIII. 1908. p. 203—210.)

Verf. stellt auf Grund seiner Beobachtungen die gleichen biologischen Verhältnisse für die in Deutschland auf Obstfrüchten auftretenden Schildlausarten fest, wie sie aus den Untersuchungen Rehs (Untersuchungen an amerikanischen Obstschildläusen. Jahrb. der Hamb. wissensch. Anstalten. Bd. XVI. Beiheft 2) über amerikanische Obstschildläuse hervorgehen. Für Deutschland kommen folgende Tiere in Betracht: die gelbe austernförmige Schildlaus Aspidotus ostreaeformis Curt., die rote austernförmige Schildlaus Diaspis fallax Horv., die Kommaschildlaus Mytidaspis pomorum Bché. und in einzelnen Fällen die Blutlaus Schizoneura lanigera Hausm.

Schaffnit (Bromberg).

Lüstner, G., Ueber stärkere, in den Jahren 1906 und 1907 beobachtete Insektenschäden. (Bericht der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1907 [1908]. p. 294—295.)

Schilderung von massenhaftem Auftreten des Eichenwicklers und der Apfelbaumgespinstmotte im Rheingau und des Goldafters in der Umgebung von Hochheim und Flörsheim a. M. Der letztere sucht dort hauptsächlich die Zwetschenbäume heim.

Morstatt (Geisenheim).

Green, E. E., Remarks on indian scale insects (Coccidae). Part III. (Memoirs of the Dept. of Agric: in India. Vol. II. 1908. No. 2.)

Verf. vervollständigt hier seine in „Indian Museum Notes“ Part I Vol. V. No. 1 und Part II. No. 2 angefangene Arbeit über die Indischen Cocciden.

Beschrieben werden im ganzen Werk die Monophlebinae, Margarodinae, Asterolecaniinae, Eriococcinae, Dactylopinae, Tachardinae, Coccinae, Lecaniinae und Diaspidinae, insgesamt 102 Arten, darunter zahlreiche neue.

Dem dritten Teil der Arbeit sind 3 gut gelungene Tafeln beigegeben.

v. Faber (Berlin).

Bremner, O. E., New Coccidae from California. (Canada Entomologist. Vol. XXXIX. 1907. p. 366—368.)

Schädlinge sind: Aspidiotus densiflorae auf Quercus densiflora, Aspidiotus yulupae auf Quercus lobata und Odonaspis graminis auf Graswurzeln. Es sind neue Arten.

Matouscheck (Wien).

Sanders, J. G., The terrapin scale (Eulecanium nigrofasciatum Pergande). (Unit. Stat. Dep. Agric., Bur. Entom., Circul. No. 88. 1907.)

Eine kurze Beschreibung der Schildlaus Eulecanium nigrofasciatum Perg., welche ihren Namen „terrapin scale“ von den dunklen Radialstreifen ihres Schildes hat, welche besonders am Rande breit und deutlich sind, so daß sie an die Felderung eines Schildkrötenpanzers erinnern. Es werden in dem Zirkular die Futterpflanzen genannt, meist Obstbäume und Beerensträucher, kultivierte wie wilde. Zur Bekämpfung wird Bespritzung der unbelaubten Bäume mit Petroleumemulsion empfohlen und ein Rezept zu deren Herstellung gegeben.

K. Friederichs (Berlin).

Lenk, Fraß der kleinen Fichtenblattwespe (Nematus abietum Hrtg.) im Forstbezirke Linz. (Oesterreichische Forst- und Jagdzeitung. Jahrg. 26. 1908. p. 299—300.)

Die Beschaffenheit des Fraßes auf Fichten wird genau beschrieben und abgebildet. Finken, Ammerlinge und Kohlmeisen wurden beim Vertilgen der Larven beobachtet. Eine Bekämpfung des Insektes läßt sich mit Aussicht auf Erfolg nicht durchführen, da weder das Sammeln der Larven in den Gipfeltrieben noch jenes der Kokons im Boden praktisch durchführbar wäre; auch ist in den Kulturen das empfohlene Abschütteln der Larven auf untergehaltene Tücher wegen des dichten Schlusses nicht anwendbar. Da sich der Fraß immer nur auf einzelne Triebe (Gipfel und äußerste Zweigspitzen) beschränkt, so reichen die in den befallenen Hölzern aufgespeicherten Reservestoffe hin, die teilweise entnadelten Triebe neu zu begrünen, bezw. bei Kahlfraß die Bildung von Sekundärgipfeln zu bewirken. Matouschek (Wien).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nüsslin, Zur Biologie der Chermes piceae Ratz. (Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft. 18. Jahresversammlung zu Stuttgart 9.—11. Juni 1908. Leipzig 1908. p. 205—224. Mit Textfiguren.)

Verf. fand 1898 die sexuelle Generation dieses Insektes, aber sie ist impotent. Als Folge dieser Unfruchtbarkeit erscheint die effektiv ausschließlich parthenogenetische Fortpflanzungsweise der Species Chermes piceae. — C. Börner hat dies bestätigt.

Die Biologie der Zweig- und Nadelläuse läßt sich in den folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Die Zweig- und Knospenexulans entwickelt sich als erste Generation (hiemalis Börner) des Frühjahrs aus den im Beharrungsstadium überwinterten Jungläusen. Diese Entwickelung vollzieht sich im April, in milden Jahren schon früher. 2) Aus den Eiern dieser ersten Generation können nun als Kinder einer Mutter hervorgehen: a) Jungläuse, die sofort schon im ersten Stadium in Beharrungszustand treten und sich insbesondere an der Achse des jungen Maitriebes festsetzen, um hier bis zum nächsten Jahre in Latenz zu bleiben; b) Nadelmutterläuse, an der Unterseite der Maitriebnadeln, die sich innerhalb 14 Tage dreimal häuten, im 4. Stadium kugelige Wollmassen ausscheiden und eine geringe Zahl von Eiern ablegen (II. Exulans-Generation [aestivalis Börner]); c) Sexuparae, ebenfalls auf der Unterseite der Maitriebnadeln, die ebenfalls in rascher aber 4-maliger Häutung zu Nymphen und Geflügelten fortschreiten. Sie stellen eine Geschwistergeneration der Nadelmutterläuse dar; d) aus den Eiern der Zweigmutterläuse können Exulans-Mutterläuse an älterer Rinde hervorgehen. Die II. Generation teilt sich also in Nadelexulantes, Sexuparen und Stammexulantes. 3) Eine III. oder weitere Generation gibt es (von den Sexuales abgesehen) bei Chermes piceae nicht (im Gegensatze zu Chermes strobilobius und anderen Chermes-Arten). 4) Die Sexuparen gehen in ungünstigen Jahren meist schon vor der vierten Häutung zu Geflügelten zugrunde. Die Sexuales erscheinen daher nicht regelmäßig alle Jahre. 5) Aus den Eiern der Nadelexulantes entstehen ausschließlich larvale Beharrungsläuse.

Der Lebenslauf und die Fortpflanzungsweise der Species Chermes piceae läßt sich, soweit bis jetzt bekannt geworden ist, durch folgende Schemata darstellen:

(Siehe Schema p. 256.)

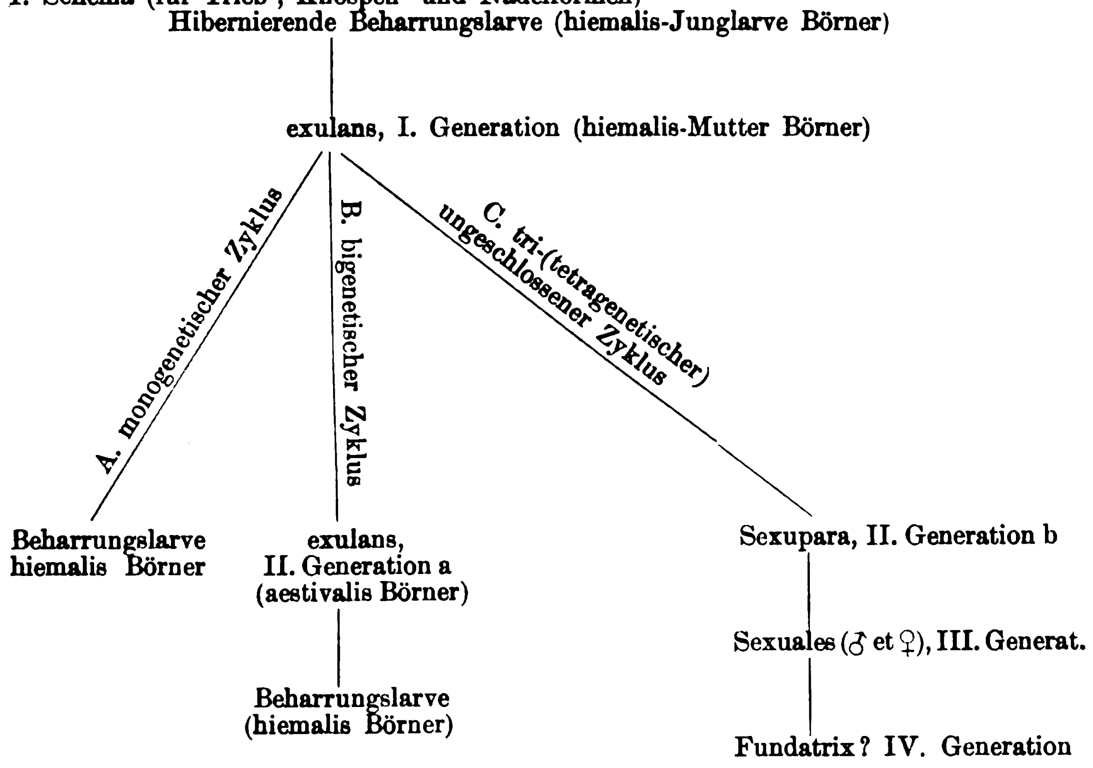
Es sind also 3 verschiedene Zyklen A, B, C. — A ist der engste, monogenetisch, monomorph und monözisch. — B ist der zweite bigenetische, bimorphe und monözische Zyklus mit den beiden parthenogenetischen Generationen Exulans I (hiemalis Börner) und Exulans II (aestivalis Börner). — C ist der komplizierteste Zyklus, der aber ungeschlossen verläuft, weil die Sexuales-Generation unfruchtbar geworden ist und keine fruchtbare Fundatrix zu erzeugen vermag, so daß eine zur Tanne zurückkehrende Gallengeneration, welche den Schluß des Zyklus herzustellen hat, wenigstens in Mitteleuropa fehlt. C ist als Zyklus also ungeschlossen. Matouschek (Wien).

Green, E. E., White Ants. (Circulars and Agric. Journal of the Royal Botan. Gardens Ceylon. Vol. IV. 1908. No. 10.)

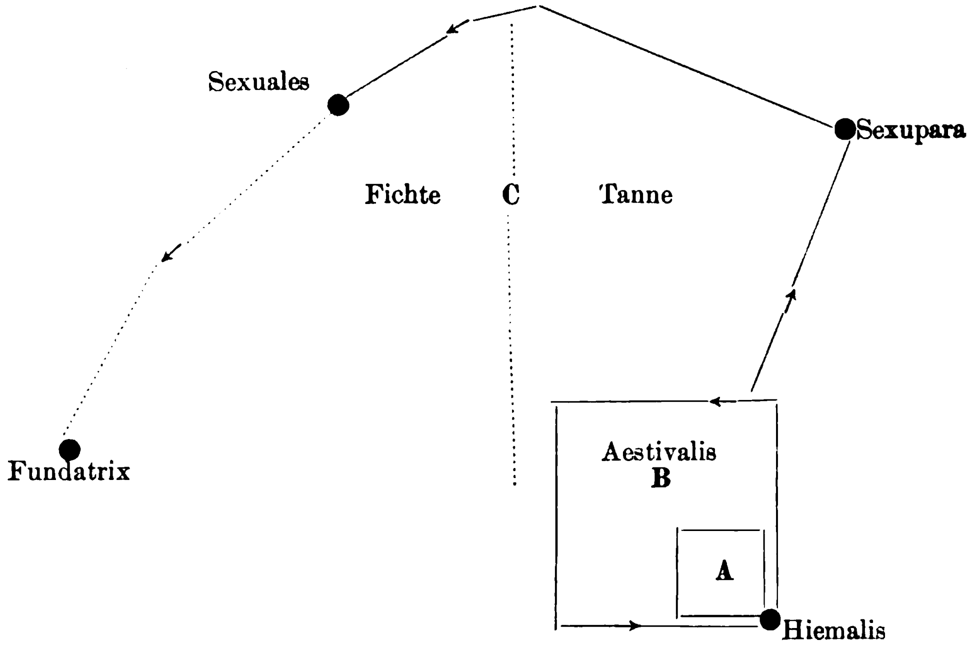
Green befaßt sich in dieser Arbeit mit denjenigen Termitenspecies, die hohe pyramidenförmige Erdnester bilden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

I. Schema (für Trieb-, Knospen- und Nadelformen)


Hibernierende Beharrungslarve (hiemalis-Junglarve Börner)
exulans, I. Generation (hiemalis-Mutter Börner)
A. monogenetischer Zyklus
B. bigenetischer Zyklus
C. tri-(tetragenetischer) ungeschlossener Zyklus
Beharrungslarve hiemalis Börner
exulans, II. Generation a (aestivalis Börner)
Beharrungslarve (hiemalis Börner)
Sexupara, II. Generation b
Sexuales (♂ et ♀), III. Generat.
Fundatrix? IV. Generation

II. Schema (nach Börner).


Sexuales
Sexupara
Fichte
C
Tanne
Fundatrix
Aestivalis
B
A
Hiemalis

In den Bauten wurden von Green sogenannte Pilzgärten gefunden, die zur Nahrung der jungen Insekten dienen.

Nach Untersuchungen des Verf. sind zwei Drittel der Insel Ceylon von den Termitenbauten unterminiert.

Auf eine eingehende Beschreibung der Lebensweise der Termiten folgt eine ausführliche Anleitung der Bekämpfungsmethoden. In Peradeniya ausgeführte Versuche zeigten, daß das Einspritzen von Schwefelkohlenstoff in die Bauten von großem Erfolg bei der Bekämpfung war; trotzdem dürfte diese Methode infolge der leichten Entzündbarkeit des Schwefelkohlenstoffs in großem Maßstabe nicht durchführbar sein.

Eine andere Methode der Bekämpfung, die bereits in Südafrika mit Erfolg angewandt wurde, besteht darin, daß man mittels eines Apparates Dämpfe eines Gemisches von Schwefel (15 Proz.) und Arsenik (85 Proz.) in die Bauten bläst, und letztere dann mittels Lehm verschließt.

v. Faber (Berlin).

Lodes, Anton, Ein neuer Laubholzschädling (Barbitistes Oczkayi Charp.) (Centralblatt für das gesamte Forstwesen. Jahrg. XXXIII. 1907. Heft 3. p. 129—131.)

In der Gemeinde Bescavalle auf der Insel Veglia fand Verf. 1905 auf jungen Laubbäumen (z. B. Acer Monspessulanum, Eichen) die genannte Heuschreckenart, welche vor etwa 28 Jahren dort die Mahalebkirschbäume devastiert hat. Natürliche Feinde hat der Barbitistes in flügellosen grünen Laubheuschrecken (Ephippiger discoidalis, Pholidoptera Chabrieri Ch.). Barbitistes ist sehr polyphag.

Matouschek (Wien).

Friderici, Die südamerikanische Wanderheuschrecke. (Tropenpflanzer. 1908. No. 7.)

Verf. berichtet, daß vom Amazonasgebiet in Brasilien bis zum Rio Nëuquen in Argentinien und noch weiter südlich seit vielen Jahren ungeheuere, fliegende Heuschreckenschwärme als Geißel für Land- und Viehwirtschaft auftauchen. Besonders für Argentinien spielen diese Schädlinge eine große Rolle, und viele Millionen Pesos sind von der Regierung bereits für Heuschreckenvertilgung verausgabt worden. Dabei ist ein Vernichtungskampf gegen die schon fliegenden Heuschrecken ziemlich ausgeschlossen. Die Brutstätten aber dieser Schwärme, die Jahr für Jahr, von Norden kommend, in die argentinischen Provinzen einfallen, befinden sich im Stromgebiet des Amazonenstromes, im brasilianischen teilweise überhaupt noch unbekannten Tieflande. Die nomadisierenden Indianerstämme dort haben kein Interesse und wohl auch nicht die Möglichkeit, die Brutstätten zu zerstören, obwohl ein Vorgehen gegen die Brut der fliegenden Heuschrecke, den „Hüpfer" leicht und aussichtsvoll ist.

Verf. geht nun weiter auf Entwickelung und Bekämpfung der Tiere ein, erwähnt, daß u. a. zur Bespritzung der jungen Brut mit für Pflanzen unschädlichen Flüssigkeiten bereits Apparate konstruiert sind, die in 1 Stunde 2000 qm leisten, aber auch, daß pro Quadratmeter in vielen Fällen nach der Eiablage 100000 Eier der Schädlinge gefunden wurden. Auch ist in den vielfach mit dornigem Unterholz bestandenen dichten Wäldern an eine Bekämpfung überhaupt nicht zu denken.

Die weitere Entwickelungsstufe der Heuschrecken, die Hüpfer, werden durch eine im Original näher ausgeführte Fangmethode, ähnlich wie man bei Jagden das Wild nach bestimmten Orten durch irgendwelche Hindernisse zusammengedrängt, bekämpft. Ehrenberg (Breslau).

Marlatt, C. L., The periodical cicada (Tibicen septendecim L., race tredecim Walsh-Riley). (Unit. Stat. Dep. Agric., Bur. Entom., circul. No. 89, 1907.)

Ein Begleitschreiben zu einem Fragebogen, in dem Angaben erbeten werden über die Verbreitung der alle 13 bezw. (in den nördlicheren Gegenden) alle 17 Jahre besonders stark auftretenden Cicade Tibicen septendecim in der Union. Diese Cicade wird nur ausnahmsweise beträchtlich schädlich durch die zwecks Eiablage den Zweigen zugefügten Stiche; sie kann durch Abschütteln von den Bäumen in der Morgenfrühe wirksam bekämpft, sowie auch durch gewisse Spritzmittel von der Eiablage an den Bäumen zurückgehalten werden.

K. Friederichs (Berlin).

Escherich, K., Neues vom Maikäfer. (Naturwiss. Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 7. p. 366.)

Im Domänenwalddistrikt „Kammerforst“ (Forstamt Graben in Baden) ist das Auftreten des Maikäfers zu einer Kalamität geworden in zweierlei Beziehung. Er tritt nämlich nicht nur als Kultur- sondern auch als Bestandsverderber auf. 80—100-jährige Buchen gehen ein, als einzige Beschädigung konnte eine starke Verstümmelung des Wurzelsystems durch Engerlinge nachgewiesen werden. Wie die beigegebenen Photographieen zeigen, sind die Faserwurzeln vollkommen abgefressen, so daß die Wurzeln wie abrasiert erscheinen. Die natürliche Verjüngung der Laubholzbestände ist geradezu unmöglich gemacht, nur da wo der Grundwasserspiegel höher steht, wo also der Engerling nicht gern lebt, ist prächtiger Buchenwald vorhanden.

Die Laubholzpflanzen leiden viel mehr an dem Engerlingfraß als die Föhren, da letztere ihr Wurzelsystem leicht zu regenerieren vermögen. Der weibliche Käfer entfernt sich zur Eiablage nur wenig von der Fraßstätte, meist findet die Eiablage auf engebgrenzten Plätzen statt. Mit Pfriemen (Aira? Ref.) bewachsene Plätze bleiben von Engerlingen frei. Bei dem diesjährigen Fang war Melolontha hippocastani mit 90 Proz. vertreten, M. vulgaris nur mit 10 Proz.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Disqué, Heinrich, Versuch einer mikrolepidopterologischen Botanik. (Deutsche entomologische Zeitschrift Iris. Herausg. vom Entomologischen Verein Iris zu Dresden. Jahrg. 1908. p. 34—147.)

Verf. entwirft uns ein Bild von denjenigen Micro-Raupen, die in oder auf Pflanzen leben, indem er bei jeder Pflanzenspecies angibt, welche Raupen sie beherbergt. Man findet da oft eigentümliche Genossenschaften. Die Pflanzenarten sind alphabetisch geordnet, die Falter nach dem Stgr.-Rebelschen Kataloge. Ein Beispiel gibt die Anordnung an: Ammophila arenaria: Anerastia lotella Hb. zwischen den Büscheln in Röhren, Dactylota kinkerella Snell, miniert oder ein anderes: Colutea arborescens: Etiella zinckenella Tr. in den Schoten, Grapholitha nebritana Tr. in den Schoten, Coleophora serenella. Die polyphagen Raupen sowie die an Moos, Gras, Flechten, Schwämmen, trockenen Früchten, Pilzen, Knochen, Nestern, Eulengewölle, Ameisenhaufen, Bienenstöcken lebenden sind am Schlusse der Arbeit besonders erwähnt.

Die Zusammenstellung ist sicher eine mühselige, sie kommt nicht nur dem Sammler sondern auch dem Phytopathologen gut zu statten als ein Nachschlagebuch.

Matouschek (Wien).

Müller-Rutz, J., Beitrag zur Microlepidopteren-Fauna der Schweiz. I. Teil. (Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft. Bd. XI. 1908. p. 316—334.)

Seit 22 Jahren hat die Lepidopterenfauna der Schweiz von H. Frey keine Ergänzung mehr erfahren. Wohl enthalten einige wenige später

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

publizierte Lokalfaunen Microdepidopteren. In vorliegender Abhandlung wird eine große Anzahl recht seltener, für die Schweiz neuer, Kleinschmetterlinge notiert. Einige Lepidopterologen unterstützen den Verfasser. Uns interessieren folgende Angaben:

Die Raupe von Phycita Coronatella Gn. wurde auf Acer campestre, die von Pionea decrepitalis H. S. auf Lunularia rediviva, die von Stenoptilia lutescens H. S. in den noch nicht entfalteten Blättern der Endknospen von Gentiana lutea, die von Exapate ignotella de R. n. sp.? auf Thalictrum foetidum, die von Evetria posticana Zett. in den Knospen junger Föhren, die von Polychrosis bicinctana Dup. in den Blüten und Fruchtköpfen von Allium, die der Frühlingsgeneration aber in den Blütendolden von Sedum maximum gefunden. Matouschek (Wien.)

Grund, Massenhaftes Auftreten von Schmetterlingen im Jahre 1908. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. Bd. IV. 1908. p. 428.)

In Westböhmen und Bayern traten endlose Schwärme von Kohlweißlingen auf, von Nordost-Südwest ziehend, desgleichen in der Folge deren Raupen. Die Verheerungen durch diese erstreckten sich nicht nur auf Kohlfelder, sondern auch Rettige, Raps, Rüben, Senf, Reseda, Kresse und Levkoye wurden kahl gefressen. Schaffnit (Bromberg).

Lüstner, G., Ueber ein stärkeres Auftreten der Raupen von Argyresthia conjugella Zll. in den Früchten des Apfelbaumes. (Ber. d. Kgl. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rhein f. d. Jahr 1907. [1908.] p. 291—294. Mit 2 Abbildungen.)

Von Argyresthia conjugella befallene Aepfel wurden aus einem Orte des Westerwaldes erhalten, wo dieser Schädling allgemein und an manchen Bäumen so stark auftritt, daß kaum eine Frucht von ihm frei ist. Da er, wie aus der angeführten Literatur hervorgeht, besonders noch an Sorbus aucuparia vorkommt, so ist anzunehmen, daß er von dieser, die im Westerwald an den meisten Straßen als Alleebaum angepflanzt ist, auf die Apfelbäume überging. Außer dem Vernichten der befallenen Früchte werden noch einige Bekämpfungsmethoden gegen den Schmetterling angeraten. Morstatt (Geisenheim).

Baer, W., Gracilaria simploniella F. R. und die Eichenrindenminen. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. 1909. Heft 1. Mit 6 Abbild.)

Verf. gibt zunächst eine Beschreibung der kleinen Eichenrindenminen. Es ist noch nie nachgewiesen worden, von welchem Tier sie stammen, doch handelt es sich sicher nicht um einen Kleinschmetterling. Die Minen, die man erbeutet, sind fast immer von ihren Insassen verlassen, nur einmal, im August, fand Verf. eine winzige, stark verletzte Larve, die er für eine eucephale, amphipneustische Dipterenlarve hielt. Irgendwelche forstliche Bedeutung hat die Erscheinung kaum, die Minen, die bald unter Wundkorkbildung ausheilen, kommen nicht einmal als günstige Eingangspforten für die Sporen der Clithris quercina mit Sicherheit in Betracht.

Noch eine andere, viel seltenere Eichenrindenmine hat Verf. beobachtet, und es gelang auch, deren Bewohner aufzuzüchten, der von Schütze als Gracilaria simploniella F. R. bestimmt wurde. Es werden sodann einige Gracilaria-Arten angeführt. Die meisten

Gracilarien traten jährlich in zwei Generationen auf. Den Räupchen fehlt das 4. Bauchfußpaar. Die Minen der Gracilaria simploniella, von der Abbildungen beigefügt sind, wurden im Eichenstangenholz bei Utrecht an der glatten Rinde der Stämmchen und Aeste in großer Anzahl gefunden. Sie beginnen äußerst schmal, schlängeln sich zuerst, oft basalwärts, auf der einen Seite des Stämmchens oder Astes hin, kehren dann um und laufen mäanderförmig weiter, die Gänge legen sich einander parallel, oft eng aneinander, die Breite beträgt 2—4, zuletzt sogar 5 mm; die Mine endigt in eine Blasenmine von 5—7 qcm Umfang. Die Mine erstreckt sich je nach der Stärke des Materials, bis zu einer Gesamtlänge von 12—20 cm. Die mäandrischen Windungen greifen auch an Stämmchen von mehreren Zentimetern Durchmesser mehr oder weniger weit um dieselben herum, und erinnern oft sehr an die Fraßgänge der Agrilus-Arten. Die unterhöhlten Partieen der Rindenoberhaut treten reliefartig hervor, die Oberhaut wird durch den Wundkork gesprengt, die Decke der Minenblase platzt beim Eintrocknen. Dies ist von Bedeutung für das Auskommen des Falterchens, da sich das Räupchen, in einen dichten Schleier eingesponnen, in der Blasenmine verpuppt, Die reife Puppe schiebt sich wohl durch das Gespinst vor, um die Motte entschlüpfen zu lassen, die aber nach Beobachtungen am Zuchtmaterial die abgelöste Rindenoberhaut nicht durchbricht.

Die Puppe besitzt hochausgebildete Scheiden und ist eigentlich als „freie Puppe“ anzusprechen. Die Flugzeit von G. simploniella ist in Holland das Ende des Juni und des Juli. Auch wurde in Holland nur eine Generation im Jahre beobachtet. Die überwinterten Räupchen sind im ersten Frühjahr kaum halbwüchsig. Da das Räupchen von G. simploniella in sehr festem Material und unter bedeutendem Druck miniert, so ist es auch in hohem Grade abweichend organisiert. Aber auch wenn das Räupchen, nach der in einer der letzten mäandrischen Windungen erfolgenden letzten Häutung, seinen Aufenthalt hauptsächlich in der Blasenmine nimmt, ist es kaum als Gracilarienräupchen zu erkennen. Dieselben unterscheiden sich, das Fehlen des 4. Fußpaares ausgenommen, kaum von einem Mottenräupchen. Den hierin stark abweichenden Bau der Raupe von G. simploniella beschreibt Verf. unter Beifügung einer Abbildung. Der Körper derselben ist stark deprimiert; die einzelnen Segmente springen in der Mitte seitlich winklig vor; die sonst normal verteilten Stigmen liegen, mit Ausnahme des Prothorax, in der Mitte der Vorderwände dieser Ausbuchtungen. Die ventralen und dorsalen Flächen der Segmente sind von stärker chitinisierten, rauhen Platten, den Kriechschwielen, eingenommen. Von normalen Bewegungsorganen sind nur noch Rudimente vorhanden, von den sogenannten Nachschiebern sogar kaum diese. Während nun aber die übrigen Gracilarienräupchen kein 4. Bauchfußpaar besitzen, sind beim Räupchen von G. simploniella die Rudimente desselben genau so vorhanden, wie von den anderen Fußpaaren. Auch der Kopf ist stark deprimiert, mit fast schneidendem Vorderrand. Die Chitinschilde, die die Kopfkapsel zusammensetzen, sind, wie eine Skizze veranschaulicht, nicht normal geformt. Die Mandibeln von G. simploniella sind zwar auch schaufelförmig, aber doch etwas abweichend gestaltet. Fast die gleichen Abweichungen zeigt übrigens das Räupchen von Tischeria complanella und den weiteren Arten dieser Gattung.

Die Räupchen der Kleinfalter werden neuerdings durch die Art und Anordnung ihrer Beborstung gesondert und hierfür gewisse Typen auf-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gestellt. Doch zeigt das zum Typus Plodia gehörige Gracilarienräupchen auch hierin ziemliche Abweichungen, und zwar in bezug auf die sogenannte laterale Borstenreihe. Sie besteht bei Gracilaria für jedes Segment aus einer einzigen Borste, die beträchtlich kaudalwärts gerückt ist, statt normalerweise aus zwei (Abbildung). An diesem Merkmal wird wahrscheinlich auch das Simploniella-Räupchen als zu Gracilaria gehörig erkannt.

Viel abweichender als nach der letzten Häutung ist das Simploniella-Räupchen vor derselben organisiert, so daß man beide Stadien nur durch biologische Beobachtung als zusammengehörig erkennt. Die Verbreiterung des Prothorax und die Ausbuchtungen der einzelnen Segmente sind noch viel bedeutender. Der Körper ist völlig plattgedrückt, von Brust- oder Bauchfüßen ist nicht die geringste Spur zu entdecken. Die rauhen Chitinplatten sind auch stärker und seitlich, sowie am Vorderrande dicht mit starken Zähnchen besetzt, so daß sie wie Reibeisen wirken müssen. Besonders stark sind die Abweichungen der Mundwerkzeuge (Figur). Das Räupchen erreicht eine Länge von etwa 7 mm und ist farblos, nur die stärker chitinisierten Teile sind braun gefärbt. Es folgt noch die Angabe der benutzten Literatur.

Marshall (Halle a. S.).

Lanz, Die Schälbeschädigungen des Rotwildes. (Wild und Hund. Jahrg. XIV. 1908. No. 2. p. 17—19. No. 3. p. 40—42. No. 4. p. 60—63. No. 5. p. 76—78. No. 6. p. 96—98. No. 7. p. 110—122. No. 8. p. 131—134. Mit 7 Abbildungen im Texte.)

Trump, Dasselbe. (Ebenda. Jahrg. XIV. 1908. No. 10. p. 169—170.)

Lanz, Dasselbe (Entgegnung und Ergänzung). (Ebenda. Jahrg. XIV. 1908. No. 15. p. 262—263.)

Trump, N. N., Ziegenmeyer und **Schramm,** Bemerkungen zu diesen Aufsätzen. (Ebenda. Jahrg. XIV. 1908. No. 19.)

Lanz bietet uns eine erschöpfende Zusammenstellung der Schutzmittel gegen das Schälen des Hochwildes. Es sind dies selbstgemachte Erfahrungen und Versuche im Revier Schönbuch bei Tübingen. Er teilt die Mittel ein in vorbeugende (beschränkende) und in eigentliche. Zu den ersteren gehören:

A. Forstwirtschaftliche Maßregeln. Es sind Kiefer, Lärche, Eiche, Birne, Tanne anzubauen, da diese Bäume bald eine starke Borke erhalten. Fichte darf nicht zu licht gepflanzt werden, damit das Wild nicht gar zu leicht wechseln kann. Mit der ersten Durchforstung fange man nicht zu früh an. Aeste sind am Stamme zu belassen.

B. Standesregelung. Stark schälende Tiere schließe man ab. Auf 25 ha soll ein Stück Wild kommen. Trump meint, die richtige Fläche sei aber 40 ha. Schält der ganze Wildstand, so soll er in toto abgeschossen werden und durch einen anderen aus einer Gegend, wo nicht geschält wird, ersetzt werden.

C. Rationelle Fütterung. Reine Heufütterung ist schädlich. Grummet ist vorzuziehen. Auch gebe man im Mai oder Juni abgeschnittenes Laub von Eichen, Eschen, Him- und Brombeeren, die im Schatten getrocknet wurden. Kräftige Futtermittel sind: Mais, Hafer, Eicheln, Roßkastanien. Diese streue man umher, damit das Wild sie suchen soll. Dazu wasserhaltige Mittel: Rüben, Kartoffeln, Möhren. Als Beigabe empfiehlt sich Salz und das Holfeldsche Wildpulver. Ziegenmeyer spricht sehr für Salzlecken (ein Stück für 30 ha) und für Pfannensteine und Lehm. In Waldblößen, an Waldwegen und Schneisen pflanze man Weißdorn, Besenpfrieme, Esche, wilde Obstbäume, Heidekraut, Him- und Brombeeren. Gefälltes Holz lasse man einige Zeit liegen. Man verbessere Waldwiesen und Aecker. Trump empfiehlt frühes Mähen der Wiesen (ein Drittel Mitte Mai, ein Drittel Anfang Juni und das letzte Drittel Ende Juni), damit das Wild stets weiches Gras habe.

D. Beunruhigung des Wildes. Sie soll durch Menschen, Tiere oder blinde Schüsse recht oft erfolgen.

Von den eigentlichen Schutzmitteln erwähnt Lanz:

A. Die Umzäunung als das beste Mittel. Sind die Stämme haubar, so verwende man das Einbinden der Stämme mit Dornen, Stroh oder Holzprügeln; auch Grünbünden sind gut, wobei die unteren Stammäste gebogen und dann angebunden werden. Sehr verläßlich, aber teuer ist Drahtgeflecht in Form eines lose um den Stamm hängenden zylindrischen Mantels. Trump entgegnet, daß solche mechanische Mittel recht teuer kommen und nur kurze Zeit dauern, Lanz meint aber, man müsse unbedingt solchen Vorkehrungen Aufmerksamkeit zuwenden, um sie zu vervollkommnen.

B. Anstrichverfahren. Teer ist das beste Mittel, in drei Zickzackstreifen am Stamme angebracht, damit dessen Atmung erhalten bleibe. Nicht nachhaltig wirken Anstriche mit Fischtran, Karbol, Petroleum, Asa foetida, Jauche; an Raupenleim gewöhnt sich das Wild bald.

C. Stachelverfahren. Die Spitzen und Stacheln müssen dicht gesetzt werden, um Nutzen zu bringen, aber sie kommen teuer.

D. Harzinkrustation. Flammigers Schutzkratzer, das Punktierrad von Münst und der von Lanz erfundene Harzhobel werden erläutert. Es fließt Harz aus den Wunden, das bis zum Winter erhärtet ist.

E. Künstliche Borkenbildung. Durch mechanische Eingriffe (Langscher Rindenstriegel, Doppelreißer) entstehen Kratzwunden, die sich durch Wundkork schließen, so daß eine sehr rauhe Borke entsteht, die vom Wild nicht berührt wird. Das Rindenstriegeln kann jederzeit gemacht werden. — Eine interessante Debatte entspinnt sich über die Frage, ob in lichten oder in dunklen Waldbeständen die Borke dem Wilde besser schmeckt, und über die Frage, ob der Hunger allein oder dieser und der Durst die Motive für das Schälen sind. Sicher spielt unter den Motiven die Hauptrolle der Nachahmungstrieb und die vom Wilde liebgewonnene Schälbeschäftigung. N. N. empfiehlt ein Umknicken von schwächeren Stangen, da auf diesem horizontal liegenden Holze das Wild sich sattfressen kann. Schramm endlich macht auf Rebmann aufmerksam, der konstatieren konnte, daß in der Rostocker Heide Juglans nigra und Carya alba vom Wild nicht beschädigt wird.

Matouschek (Wien).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sobotta, Wird der Wert des Stalldüngers durch die in unseren Viehställen verwendeten Desinfektionsmittel beeinflußt? (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 78.)

Verf. weist darauf hin, daß unter Umständen nicht unbeträchtliche Mengen von Desinfektionsmitteln in den Stalldünger gelangen können. Bei einem Viehstande von 50 Kühen kamen beispielsweise innerhalb 4 Tagen etwa 83 kg Bazillol ($1^{1}/_{2}$-proz. Lösung) zur Verwendung. Der in demselben Zeitraum von den Tieren produzierte Dung belief sich auf ca. 170 Ztr. Da die Desinfektionsmasse im allgemeinen ziemlich vollständig in den Dünger gelangt, so wurde je 1 Ztr. des in 4 Tagen produzierten Stalldüngers mit ca. 480 g des $1^1/_2$-proz. Desinfektionsmittels durchsetzt.

Verf. ist nun der Ansicht, daß speziell die Teerpräparate (Kreolin, Lysol, Bazillol) dem Dünger schädlich werden können, da sie längere Zeit hindurch haltbar sind und ohne Zweifel Pflanzengifte darstellen.

Verf. will speziell vom Karbolineum sehr ungünstige, auf über Jahresfrist sich erstreckende Wirkungen auf die Vegetation beobachtet haben. (Demgegenüber ist aber zu bemerken, daß nach neueren Untersuchungen solche giftigen Stoffe, welche im Boden eine allmähliche Zersetzung erleiden, den Fruchtbarkeitszustand des Bodens günstig beeinflussen, nachdem die zunächst eintretende schädliche Wirkung vorüber ist. Ref.)

Die übrigen häufiger angewandten Desinfektionsmittel (Kalk, Sodalösung, Kali- oder Natronlauge) hält Verf. für unbedenklich. Chlorkalk und Sublimat, welche nur ausnahmsweise Anwendung finden, können jedoch Schädigungen veranlassen. Ganz im allgemeinen steht Verf. als Landwirt auf dem Standpunkte, daß dem Boden größere Mengen giftig wirkender Stoffe, also auch der zur Unkrautbekämpfung dienenden Eisen- und Kupfersalze, nicht zugeführt werden sollten.

Vogel (Bromberg).

Istvánffy, G. de, La lutte contre le rot livide (White-rot [Coniothyrium diplodiella]) de la vigne. (VIII. Congrès internat. d'agriculture. Vienne 1907. Rapports. Sections VIII—XI. T. IV. Vienne 1907 [1908]. Section X. Rapport 2/c. p. 1—15.)

Eine sehr gute Zusammenstellung, die den tüchtigen Praktiker verrät.

Die Weißfäule tritt zum Sommerbeginn in kleinen Infektionsherden auf. Die befallenen Pflanzen erhalten eine schmutziggrüne Blattfarbe und sind leicht an dem Welkwerden des Laubes, welches an den Endspitzen beginnt, zu erkennen. Die kranken Triebe schneide man bis zum gesunden Teile ab, verbrenne alle Abfälle, behandle mit 3—4-proz. Bordelaiser Brühe und früh zurzeit des Taues mit Cu-haltigem Pulver, das mit doppeltschwefelsaurem Natron (Natriumbisulfit) gemischt ist, damit die neuerliche Infektion der Wunden vermieden werde. Die gesunden Stöcke in der Nähe des Herdes sind auch so zu behandeln. Bezüglich der Behandlung der Trauben: Die Träubchen werden vor dem Weichwerden gewöhnlich nur an den Kämmen von der Weißfäule befallen. Sie sind zu verbrennen. Das Ausschneiden bahnt den Weg den Bekämpfungsmitteln. Die kurative Bekämpfung der Fäule versagt völlig, solange die Cuticula noch nicht zerrissen ist. Nur in der Phase der lachsroten Beeren werden die jungen Sporen von den Bekämpfungsmitteln erreicht. Die Erhaltung der Trauben hängt ab also von einer präventiven Behandlung, die in kurzen Intervallen und da mit gut haftenden Brühen und Bestäubung durch mit Schwefel oder Natriumbisulfit gemischten Kupferpulvern zurzeit des Taues anzuwenden ist. Unmittelbar nach der Blüte hat man zu beginnen, stets alles Krankaussehende zu verbrennen, und wenn dennoch die Fäule ausbricht, die Trauben reichlichst bespritzen und bepulvern, immer achtend, daß die Beerenteilchen mitgetroffen werden. Nach einem Hagel muß die Bestäubung sofort und mit größeren Mengen vorgenommen werden. — Begleiter der Weißfäule sind nach dem Autor: An zerstörten Trauben zeigten sich Colletotrichum Vitis Istv., Botrytis cine-

Digitized by Google | Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

rea, Pestalozzia uvicola, Cytispora ampelina. Die Pykniden des Weißfäulepilzes können durch Arten der Gattungen Chaetomium und Capnodium, Diplodia, Verticillium angegriffen werden.
Matouschek (Wien).

Istvánffy, G. de, La lutte contre le Botrytis cinerea, pourriture grise de la vigne. (VIII. Congrès international d'agriculture. Vienne 1907. Rapports. Sections VIII—XI. T. IV. Vienne 1907. [1908.] Section X. Rapport 2/c. p. 1—33.)

Ein ausgezeichnetes Referat, das die gesamte vom Verf. auch notierte Literatur berücksichtigt. Die Behandlung mit den Bekämpfungsmitteln hat anfangs September einzusetzen. Im Frühjahr und Herbst ist das abgefallene Laub sowie die unter Hecken und Zäunen liegenden abgestorbenen Blätter zu verbrennen, da auf ihnen die Sklerotien sich befinden. Das Bestreichen und Waschen der Stöcke mit den Mischungen ist zwei Wochen vor dem Schnitte ratsam.

Der grüne Schnitt ist, um ein luftiges gut belichtetes Laubwerk zu erhalten, so gut als möglich auszuführen; abgestorbene Rebteile dürfen weder im Blattwerke noch auf der Erde geduldet werden; sie sind zu verbrennen. Die Botrytis darf ja nicht die Stratifikationsgruben infizieren. Das mit Sklerotien behaftete Rebholz ist zu verbrennen. Man trachte die Feuchtigkeit herabzumindern, und zwar nicht nur auf dem eigentlichen Weinberge, sondern auch in den Gruben oft frischen Sand zu verwenden. Die Veredelungen und Reben sind vor dem Einbringen in die Rebschulen sorgfältig zu prüfen. Man hüte sich vor Stallmist, besonders dort, wo Botrytis oft auftritt. In solchen Gegenden verwende man nur gut selektionierte Sorten mit schütterem Beerenansatz. Bei Tafeltrauben ist ein sorgfältiges Ausschneiden der Beeren mit der Schere zu empfehlen, da dies den Weg für die Bekämpfung bahnt. Gerade da empfehlen sich besonders die gasförmigen Verbindungen.

Nach einem Hagel ist tüchtig zu bestäuben. Die Bekämpfung der Conchylis, des Oidiums usw. muß durchgeführt werden, da alle diese Krankheiten das Auftreten der Botrytis begünstigen, indem sie den Weinstock schwächen.
Matouschek (Wien).

Appel, Ueber die Bekämpfbarkeit des Weizen- u. Gerstenflugbrandes. (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 76.)

Die Sporen des Weizen- und Gerstenflugbrandes fliegen schon während der Blüte auf die Narben und wachsen durch diese in das sich entwickelnde Korn hinein, dadurch wird die Bekämpfung durch Beizmittel außerordentlich erschwert. Verf. ging nun von der Ueberlegung aus, daß der Pilz doch vielleicht auch im Korn abgetötet werden kann, wenn es gelingt, ihn in der Zeit mit einem Beizmittel zu erreichen, in welcher er bereits sein Ruhestadium aufgegeben hat, das Korn aber noch wenig empfindlich ist. Da die Keimung der Brandsporen nun oft schon nach 2—3 Stunden erfolgt, so wird eine Behandlung des Saatguts Aussicht auf Erfolg haben, wenn es vorher mehrere Stunden eingeweicht war. Es ergab sich in der Tat, daß bei einer Vorquelldauer von 4—8 Stunden in vielen Fällen der Brand vollständig zum Verschwinden gebracht werden konnte, wenn das Getreide alsdann einer Heißwasserbehandlung nach Jensen bei 52—56° C unterworfen wurde.

In der Praxis hat sich ein Nachtrocknen bei höheren Temperaturen besser bewährt als die Heißwasserbehandlung. Weizen erwies sich über-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

haupt als so sehr empfindlich, daß für ihn diese Methode nicht empfohlen werden kann.

Für die Behandlung der Gerste gegen Flugbrand empfiehlt Verf.:

1) Benutzung nur gut getrockneten und gut keimfähigen Saatgutes.

2) Bei Benutzung des Heißwasserverfahrens: Einquellen des Saatgutes in gewöhnlichem Wasser 4—8 Stunden; Behandlung mit Wasser von 52—56° C während 10 Minuten, rasches Ausbreiten des so behandelten Saatgutes und Trocknen unter häufigem Umschaufeln.

3) Bei Benutzung eines Trockenapparates: 4—8-stündiges Einquellen und vollständiges Trocknen auf dem Apparat bei 58—60° C.

Vogel (Bromberg).

Betten, R., Neueste Versuche und Erfahrungen mit dem Karbolineum als sicherem Mittel gegen Blutlaus, Krebs und Brand, gegen Fusicladium und Ungeziefer aller Art. 2. völlig umgearbeitete Aufl. 56 p. und 55 Abbildungen. Erfurt 1908. 85 Pfg.

Folgende Fragen werden erläutert: Wie wurde das Karbolineum bekannt? Versuchs- und Lehrjahre mit dem Karbolineum, die Nutzungsjahre und die Hauptfeinde des Obstbaumes und der Sträucher, die Beeren tragen. Ferner: Heilung der Krankheiten bei Pflanzen aller Art und die Ausdehnung der Karbolineumspritzung auf Gemüse- und Blumenpflanzen des Gartens. Ja selbst gegen den Rostpilz des Getreides läßt sich das Karbolineum anwenden. Auch wird darauf hingewiesen, daß das käufliche Karbolineum verschieden in der Wirkung ist; praktische Ratschläge sind da vom größten Werte. Matouschek (Wien).

Huber, Fusicladiumbekämpfung durch Kupferkalkbrühe oder Karbolineum. (Deutsche Obstbauzeitung. 1908. Heft 23 bis 24.)

Das Karbolineum steht in der Wirkung weit zurück hinter der Kupferkalkbrühe. Konzentrationen von $1/2$ bis zu 2 Proz. rufen empfindliche Schädigungen der Blätter und Früchte hervor.

Schaffnit (Bromberg).

Schellenberg, H., Versuche über die Bekämpfung der Peronospora. (Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. Bd. XXII. 1908. p. 284.)

Wie in früheren Jahren, so wurden auch 1907 in den Weinbergen der schweizerischen Versuchsanstalt in Wädenswil Versuche über die Bekämpfung des falschen Mehltaues durchgeführt.

Schwefelazurin (von der Miliusschen Forst- und Gutsverwaltung in Brixen) bewährte sich nicht; „Tenax" befriedigte in 1-proz. Lösung ebenfalls nicht und ergab auch in 2-proz. Lösung ein ungenügendes Resultat.

Kupfersodalösungen stimmten in ihrer Wirkung mit Bordeauxbrühen gleicher Konzentration überein. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Lüstner, G., Peronosporabekämpfungsversuche. (Bericht der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1907 [1908]. p. 342—345.)

Die Versuche konnten ihren wesentlichen Zweck, die Wirkung pulverförmiger Mittel in bezug auf die Verhinderung von Blüten- und Traubeninfektionen festzustellen, nicht erfüllen, da die Peronospora auf diesen

Teilen im Versuchsjahr nur schwach auftrat. Immerhin ließ sich eine Skala der Wirksamkeit am Laub ermitteln, wobei das Rummsche Kupferpräparat (Cucasa) zugleich mit der gewöhnlichen Kupferkalkbrühe an erster Stelle steht, darauf folgten einige pulverförmige Kupfermittel von Dr. Nördlinger-Flörsheim. Diesen ähnlich in der Wirkung waren Kristallazurin, Blitzpulverbrühe L'éclair von Vermorel und Kupferacetat 1 Proz. Kupferklebekalk von Rosendorn-Mainz erwies sich als sehr wenig wirksam. Gänzlich versagte Nonnit von v. Strantz-Berlin.

Morstatt (Geisenheim).

Fischer, J., Mittel zur Bekämpfung der Peronospora und des Oidiums der Rebe. (Bericht der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1907 [1908]. p. 22—28.)

Außer der Kupferkalkbrühe wurden zu den in Gemeinschaft mit Lüstner ausgeführten Versuchen herangezogen: Essigsaures Kupfer (Verdet Neutre), Kristallazurin, Antiperonosporina, Antiperonospora, Bouillie Bordelaise Schloesing, Carat und Reflorit. Die Wirksamkeit der Kupferkalkbrühe wurde von keinem der neuen Mittel erreicht, das Reflorit versagte gänzlich. „Aus dem Ergebnis ... läßt sich mit Leichtigkeit erkennen, daß man am besten bei der altbewährten Kupferkalkbrühe zur Bekämpfung der Peronospora bleibt.“ Morstatt (Geisenheim).

Wolff, M., Zur Kenntnis der natürlichen Feinde von Scolytus rugulosus Rtzb. (Mitteilungen aus dem Kaiser Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 1. p. 101—102.)

In einer kleineren Mitteilung berichtet der Verf., daß er als Parasit von Scolytus rugulosus Rtzb. Chiropachys colon L. beobachten konnte, was bisher noch nicht geschehen war. Chiropachys colon zeichnet sich durch eine frühe Flugzeit aus, ein Umstand, dem der Verf. im Interesse des Pflanzenschutzes große Bedeutung beimißt.

Zeller (Bernburg).

Lüstner, Gustav, Sinngemäße Niederhaltung der tierischen und pflanzlichen Krankheitserreger der Obstbäume und Gartengewächse[1]). (Deutsche Obstbauzeitung. 1908. Heft 26 und 27.)

Nachrichten über Feinde und Krankheiten finden wir nach Verf. schon beim Propheten Joel, Plinius kennt bereits eine ganze Anzahl Insekten, die noch heute als Obstschädlinge auftreten. Sehr häufig finden wir im Mittelalter das Mißraten der Körnerfrüchte erwähnt. Die Ursachen der Pflanzenkrankheiten lernte man erst um die Mitte des vergangenen Jahrhunderts allmählich kennen, doch ist man auch heutzutage über das Entstehen einer großen Anzahl von Pflanzenkrankheiten noch gar nicht unterrichtet.

Hinsichtlich der Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten möchte Verf. die Anwendung von Fungiziden und Insektiziden auf ein geringes Maß eingeschränkt sehen, wegen der hohen Kosten und der durch Zeitaufwand verursachten Störungen des wirtschaftlichen Betriebes. Die Bekämpfung soll mehr der Natur des Schädlings oder der Krankheit angepaßt werden, es muß in der Pflanzenpathologie die Hygiene mehr in den Vordergrund treten. Eine große Einschränkung der Feinde und Krankheiten wird schon bewirkt durch möglichste Verminderung der Infektionsbedingungen, durch Einhaltung der richtigen Bestellzeit und einer zweckmäßigen Fruchtfolge. Verf. wendet sich nun zu der Besprechung einiger wichtiger hygienischer Maßnahmen. Es handelt sich vor allem um Entfernung der bei der Ernte in und auf dem Boden zurückbleibenden Pflanzenüberreste oder solcher Pflanzenteile, die auch in abgestorbenem Zustande die Schädlinge enthalten, ferner um Sammeln und Unschädlichmachen der durch Parasiten zum Abfallen gebrachten und sie noch beherbergenden Früchte, um Beseitigung oder Nichtanpflanzung der für die Entwickelung wirtswechselnder Pilze notwendigen Zwischenwirte und das Absuchen und Verbrennen der namentlich an Obstbäumen überwinternden Schädlinge. Es herrscht bei Landwirten vielfach die irrige Meinung, daß die Schädlingsvernichtung durch den Frost erfolge, der jedoch nach Behrens gerade die Erhaltung der in Frage kommenden Organismen bewirkt.

---

[1]) Vortrag, gehalten in der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen in Halle a. S. am 24. Nov. 1908. Anm. d. Ref.

Es folgen nun einige Beispiele:

Fusicladium dendriticum überwintert fast ausschließlich durch Wintersporen im Innern der Blätter. Daher wird durch das Einsammeln und Verbrennen der abgefallenen Blätter im Herbst dem Pilz die Existenz sehr erschwert. Fusicladium pirinum und mit ihm zugleich Mycosphaerella sentina werden eingeschränkt durch Abschneiden und Vernichten der grindigen Aeste sowie des abgefallenen Birnenlaubes. Der Spargelrost überwintert in einer sehr widerstandsfähigen Sporenform, die schwache Pusteln an dem dürren Kraute bilden. Das Kraut ist daher schon im Herbste abzuschneiden und zu verbrennen. Kohlstümpfe sollten möglichst zeitig vernichtet werden, um den Kohlgallenrüßler und zum Teil auch die Kohlhernie fernzuhalten. Unkräuter in Gemüsegärten müssen vernichtet werden, da sie zum Teil denselben Parasiten als Nährpflanzen dienen, von denen auch die Gemüsearten befallen werden. Frühzeitig abgefallene Früchte sind aus Obstanlagen zu erfernen, da sich in ihnen die wichtigsten Obstschädlinge entwickeln. Es kommen hier in Frage Apfelwickler, Apfel- und Birnensägewespe, die Apfelstecher, Pflaumenwickler, Pflaumensägewespe und Pflaumenstecher. Auch die Verbreitung der Monilia wird durch diese Maßnahmen gehemmt. Die oben erwähnte Beseitigung oder Nichtanpflanzung von Wirtspflanzen kommt bei der Bekämpfung einiger Rostpilze in Betracht, und zwar wird durch Fernhalten des Sadebaums der Birnengitterrost, durch Vernichten der zypressenblättrigen Wolfsmilch der Erbsenrost und durch Nichtpflanzen der Weymouthskiefer der Stachelbeerrost erfolgreich unterdrückt. Das Abschneiden und Verbrennen kranker Aeste und Blätter an Obstbäumen vor Winter ist sehr wichtig, im Jahre 1887 wurde die verheerend auftretende „Kirschblattseuche“ durch Vernichten der abgefallenen und hängengebliebenen Blätter fast ganz unterdrückt. Das Verschwinden der früher in der Mainzer Gegend verheerend auftretenden Spargelfliege wurde dadurch bewirkt, daß noch im Herbste das dürre Spargelkraut möglichst tief abgeschnitten und an Ort und Stelle verbrannt wurde.

Nur bei gewissenhafter und allgemeiner Anwendung versprechen die obigen Maßnahmen einen vollen Erfolg. Daß die verschiedenen Kulturzweige jetzt sehr viel mehr unter Feinden und Krankheiten zu leiden haben als in früheren Jahren, liegt an zwei Ursachen. Einerseits werden jetzt unsere Nutzpflanzen in weit größerem Umfange angebaut, hierdurch wird natürlich Vermehrung und Verbreitung der Parasiten sehr begünstigt, dazu kommt noch, daß die Pflanzen durch jahrhundertlange

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kultur an Widerstandskraft erheblich eingebüßt haben. Die Beobachtung, daß verschiedene Sorten einer Kulturpflanze in verschiedenem Maße oder zum Teil gar nicht empfänglich für bestimmte Krankheiten sind, ist sehr wichtig. Da jedoch hierbei auch bestimmte Gegenden eine Rolle spielen, so ist es ratsam, durch Anbauversuche die widerstandsfähigen Sorten kennen zu lernen und in der betreffenden Gegend dann nur diese weiter anzubauen. Jedenfalls spielen Boden, Klima und Lage eine wichtige Rolle bei den verschiedenen Empfindlichkeitsgraden. Die zweite Ursache des stärkeren Auftretens von Pflanzenkrankheiten ist die Verschleppung von Parasiten durch den Pflanzenhandel. Es wird erinnert, daß die Reblaus durch Einfuhr amerikanischer Reben zu uns gekommen ist. Ferner werden noch die Blutlaus, der amerikanische Stachelbeermehltau, sowie der echte und falsche Mehltau des Weinstockes als bei uns früher unbekannte, durch den Pflanzenhandel aus Amerika eingeschleppte Parasiten erwähnt.

Verf. schließt mit einem Hinweis auf die neuerdings von der Regierung ins Leben gerufene Pflanzenschutzorganisation und deren Zweck.

Marshall (Halle a. S).

Schwartz, Martin, Ueber einige neue und alte Mittel zur Bekämpfung schädlicher Insekten. (Arbeiten aus der Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. H. 4.)

1. Mittel gegen die Blutlaus: Die Fuhrmannsche Fettmischung und das Tabaklaugengemisch haben sich sehr gut in der Praxis bewährt. Die Anforderungen, denen ein einwandfreies Blutlausmittel genügen muß, sind: Tötung der Tiere ohne der Pflanze zu schaden. Es muß überall hin gelangen und an allen Stellen sicher wirken, es muß ferner während der Vegetationsperiode anwendbar sein und wenn möglich eine gewisse vorbeugende Wirkung besitzen. Seine Anwendung darf nicht allzu oft nötig, nicht zu kostspielig und nicht zu zeitraubend sein. Karbolineum hält nach Verf. Erfahrungen diesen Bedingungen nicht stand. In konzentrierter Form ist es ein Pflanzengift, in verdünnteren Lösungen muß seine Anwendung zu oft wiederholt werden und reicht trotzdem zur Abtötung nicht aus. Antisual tötete zwar alle Läuse ab und besaß auch vorbeugende Wirkung, zeigte aber nach Verlauf des Winters äußerst schädliche Folgen für die Bäume. Zur Beseitigung vereinzelter Blutlausherde ist vorsichtige Verwendung von Leinöl sehr zu empfehlen. Vor Petroleum, Benzin und sonstigen leichten Kohlenwasserstoffverbindungen muß gewarnt werden.

Dr. Guichards Blutlaustod und das Wagolin tötet die Pflanze. Das Hartpetroleum Isiol ist völlig unbrauchbar. Fichtenin wirkt in jeder Beziehung wie Schmierseifenlösung. Markasol ist nur in Konzentration von $2^{1}/_{2}$ Proz. und mehr mit Erfolg anwendbar, wirkt aber ätzend auf das Blattwerk. Lauril-Harzölseife ist unzureichend.

Die Tabakextrakte des Handels (Excelsior, Fulgor, Torino und Nicotine titrée) bewährten sich in wäßrigen, mit Seife und Spiritus versetzten Lösungen auf das beste und schienen alle oben angeführten Bedingungen zu erfüllen.

2. Mittel gegen Chermes piceae. Großen Erfolg hatte folgende Mischung:

Schmierseife	100	Teile
Tabakextrakt	30	„
Wasser	1400	„

Markasol- ($2^1/_2$-proz.) Tetraemulsion-Lösung (3-proz.) und Wagolin schadeten den Pflanzen sehr. Fichtenin tötete einen Teil der Läuse. Avenarius' Baumspritzmittel ($^1/_2$—1-proz.) blieb ohne Erfolg.

3. Mittel gegen Blattläuse und rote Spinnen. Gegen Blattläuse helfen die Tabaksextrakte Excelsior und Nicotine titrée (als Spritzmittel). Nicotine Aitrée ist zweckmäßig mit Seifenwasser zu vermischen. Rote Spinnen auf Erdbeeren wurden durch 6-proz. Excelsiorlösung vernichtet.

Marshall (Halle a. S.).

Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus und ähnlicher Schädlinge an Obstbäumen. (Landwirtsch. Wochenschr. f. die Provinz Sachsen. 1908. No. 48/49.)

Verf. gibt zunächst eine kurze Darstellung der Lebensgeschichte der Blutlaus und führt aus, daß ein einziges Muttertier im Laufe des Jahres viele Millionen Nachkommen haben kann. Sodann geht er zum Hauptgegenstand seines Artikels über, zu den Bekämpfungsmitteln, ihrer Beurteilung und Zeit und Art ihrer Anwendung.

Für die Bekämpfung der Blutläuse muß man ihre Ueberwinterungsweise kennen. Sie überwintern in tieferen Teilen der von ihnen erzeugten Wundstellen, durch abgestorbene Läuse geschützt, sowohl ober- als auch unterirdisch[1]) oder auch in Eiform.

Die Bekämpfungsmaßnahmen trennt man in eine Winterbehandlung und in eine Sommerbehandlung. Mit einer Sommerbehandlung kann man allenfalls zum Ziele kommen, nie aber mit der Winterbehandlung allein. Sie ist aber dennoch anzuraten, da sie sich auch gegen eine Fülle anderer pflanzlicher wie tierischer Schädlinge richtet und zugleich ein Mittel gegen Frostbeschädigung bietet.

Verf. geht zunächst auf das Anstreichen mit einer Brühe aus 10—12-proz. Kalklösung, Ochsenblut, Lehm, Jauche und dergleichen näher ein, und kommt zu dem Schlusse, daß dieser Anstrich eigentlich nur als Frostschutzmittel gute Dienste leistet, da er zur Schädlingsvernichtung nicht giftig genug ist und auch nicht an alle Teile des Baumes gebracht werden kann. Daher ist die Anwendung von Winterspritzmitteln vorzuziehen, wie sie in den wasserlöslichen Karbolineumsorten des Handels vorliegen. Dieselben dürfen in höchstens 10—15-proz. Konzentration während der Winterruhe des Baumes gebraucht werden. Stärkere Lösungen wirken sehr nachteilig auf die Bäume ein. Auch vor Benutzung des Rohkarbolineums ist aus diesem Grunde zu warnen. — Die Winterbespritzung erfolgt am zweckmäßigsten im Frühjahr, denn spritzt man im Herbst, so nimmt man einerseits den Vögeln einen großen Teil ihrer Nahrung, andererseits kommt man doch nicht um die Frühjahrsbespritzung herum. -- Unbedingt aber ist vorm Winter der Wurzelhals freizulegen und gehörig mit Kalk oder besser noch mit Tabaksstaub zu bestreuen, um den an dieser Stelle überwinternden Läusen beizukommen. — Die Frühjahrsbespritzung ist wichtiger als die Herbstbespritzung. 10-proz. Karbolineumlösung ist noch anwendbar, die Bespritzung muß kurz vor Knospenaufbruch beendet sein. Als Frostschutz kann man mit dem Karbolineum Kalk aufbringen, doch muß man dann so zeitig spritzen, daß im Februar die Bäume weiß aussehen, zugleich praktisch, um zu kontrollieren, ob man bei der Bespritzung auch überall hingelangt ist. Auch Zusatz von Bordeauxbrühe (zur Fusicladium-Bekämpfung) kann gegeben werden und macht ebenfalls die bespritzten Stellen sichtbar.

---

[1]) Gelegentlich einer Revision im Diemitzer Provinzialobstgarten am 3. Dezember 1908 wurde beobachtet, daß das Erdreich um den Wurzelhals befallen gewesener Apfelbäume dicht mit lebenden Blutläusen durchsetzt war, und zwar handelte es sich meist um ganz jugendliche Individuen. Anm. d. Ref.

Die ölartigen Bekämpfungsmittel, z. B. die Fuhrmannsche Mischung, sind geeignet, eine länger anhaltende Wirkung als die wäßrigen Schutzmittel auszuüben, ihre Anwendung vereinzelten Blutlauskolonieen gegenüber darf daher nur empfohlen werden, wenn sie für den Baum völlig unschädlich sind, außerdem ist ihr Gebrauch umständlich, da man sie mit dem Pinsel auftragen muß. Von Verwendung reinen Karbolineums ist stets abzuraten.

Für die Sommerbespritzung ist die wichtigste Frage, welcher Wert den Karbolineumsorten beizumessen ist. Von sieben vom Verf. erprobten Sorten wurde, bei intensivster Bespritzung mit den wirksamsten Spritzen, weder bei Anwendung von $^1/_2$-proz. noch von 2-proz. Lösung die Abtötung aller Läuse einer Kolonie erzielt. Nach Verlauf von 8 Tagen war überhaupt keine Wirkung der Bespritzung mehr zu sehen, außer daß die Blätter (weißer Wintercalvill-Apfelbaum) von 2-proz. Lösung sehr erheblich, von $^1/_2$-proz. Lösung noch merklich geschädigt worden waren.

Bei der Prüfung der verschiedensten Blutlausmittel ergab sich, daß ein einziges derselben in jeder Beziehung empfehlenswert war. Es ist dies ein von dem englischen Entomologen Collinge erfundenes Geheimmittel, das er als „V 2“ bezeichnet hat, und das von der Firma M. Kanold in Hamburg in Deutschland eingeführt wurde. Die von dem Mittel getroffenen Kolonieen werden völlig abgetötet und bleiben wochenlang steril. Beschädigung der Pflanzen konnte nur bei den allerempfindlichsten Sorten konstatiert werden.

Collinge hat auch ein Winterspritzmittel erfunden, welches das 10-proz. Karbolineum bei weitem übertreffen soll.

Von großem Interesse dürfte auch sein, das „V 2“ gegenüber den schwarzen Blattläusen der Rüben und Pferdebohnen zu prüfen.

Zum Schluß faßt Verf. die wichtigsten Gesichtspunkte seines Artikels noch einmal übersichtlich zusammen. Marshall (Halle a. S.).

Szigethi, Gy. A., A szölöfajták Phylloxera iránti ellenállósága szövettanilag. [Die Widerstandsfähigkeit der Rebenarten hinsichtlich der Gewebekonstruktion von deren Wurzeln.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 59—62.)

Die durch die Phylloxera verursachte Wurzelbeschädigung ist bei den einzelnen Arten und in verschiedenen Entwickelungsphasen auch verschieden. Außer Vitis rotundifolia finden wir auf den angegriffenen Faserwurzeln die bekannten Nodositäten, deren Epidermis infolge weiteren Stoffwechsels in den Geweben aufreißt, wodurch Fäulniserreger in die Wurzelgewebe gelangen, die sodann die Zerstörung derselben verursachen. Da die Faserwurzeln leicht ersetzbar sind, wird die Lebensfähigkeit des Stockes hierdurch wesentlich nicht gefährdet. Viel gefährlicher jedoch ist der Angriff der über ein Jahr alten Wurzeln, an welchen in diesem Falle Tuberositäten entstehen, die später auch aufreißen, wodurch Fäulniserreger auch leicht zu den inneren Geweben gelangen können. Infolge des durch die Fäulnis verursachten Reizes bildet sich unter der Anschwellung eine mehrzellige Korkschicht, die den Fortgang der Fäulnis verhindert, wie dies bei widerstandsfähigen amerikanischen Reben der Fall ist. Hingegen bei nicht widerstandsfähigen Arten und besonders europäisch-amerikanischen Hybriden hindert die entstandene Korkschicht den Fortgang des Fäulnisprozesses nicht, da gleichzeitig in den tiefer liegenden noch gesunden Gewebeschichten eine Zellenteilung erfolgt und die faulende Anschwellung nicht abfällt, sondern unter derselben eine neuere gebildet wird, die die Korkschicht wieder durchbricht, wodurch die Fäulniserreger in immer tiefere Gewebeschichten dringen können. Es können somit in der Wurzel auch 2—3 derartige schützende Korkschichten vorkommen, und doch geht dieselbe zugrunde. Dieser Fall ist besonders an Herbemont-, Jaques-, Delaware- und Isabellawurzeln ersichtlich. Späterhin entstehen Tuberositäten auch an der Hauptwurzel. Den Grad der Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Arten gegen die Phylloxera bestimmt die verschiedentliche Rindenkonstruktion der älteren Wurzeln. Das in den Rinden- und Bastgefäßen entdeckte Meristem war nur in nicht widerstandsfähigen Vinifera-Arten und deren Hybriden zu konstatieren. Außerdem hemmen die Bastfaserbündel der älteren Wurzeln amerikanischer Reben die Reizwirkung des Schädlings und Fäulnisprozesses, wodurch die Bildung neuerer Anschwellungen auch verhindert wird. Pósch (Grinád, Ungarn).

Moritz, J., Beobachtungen und Versuche betreffend die Reblaus, Phylloxera vastatrix Pl., und deren Bekämpfung. (Sonderabdruck aus „Arb. a. d. Kaiserl. Biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch.“. Bd. VI. 1908. Heft 5. p. 499—571.)

Die vorliegenden Arbeiten und Versuche sind von 1896—1906 in verschiedenen deutschen Weinbaugebieten zur Ausführung gelangt und bilden die Fortsetzung der in den „Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte“ Bd. VIII. p. 507 ff. und Bd. XII. p. 661 ff. veröffentlichten Beobachtungen.

Verf. beginnt mit der Mitteilung von Beobachtungen, die sich auf das biologische Verhalten der Reblaus beziehen, und teilt einen Versuch mit, durch den entschieden werden sollte, ob die Nachkommen derselben Mutterlaus unter sich gleich oder verschieden sind. Dieser Versuch führte leider zu keinem brauchbaren Ergebnisse, da es zwar mehrfach gelang, aus isolierten Eiern junge Reblauslarven zu ziehen, eine Wurzelbesiedelung und Weiterentwickelung indessen nicht erreicht werden konnte. Es wurde an einer Mutterlaus festgestellt, daß sie im Verlauf von 7 Tagen 78 Eier legte. Die Gesamtzahl der von ihr hervorgebrachten Eier betrug 81 Stück. Aeußerliche Unterschiede waren an den Eiern nicht wahrnehmbar. — Verf. versuchte nunmehr auf folgende Weise die Nachkommen zu züchten: Reblausfreie Wurzeln wurden in reblausfreie Erde gebettet und auf die Oberfläche der Erde eine Nodosität mit Rebläuseeiern gebracht und das Versuchsglas mit einem Papierverschluß versehen. Am 12. Sept. 1899 mußte leider der Versuch vorzeitig abgebrochen werden. An den Wurzeln wurden 9 junge Rebläuse gefunden, die sich an verschiedenen Stellen festgesetzt hatten. Da sie noch vor der ersten Häutung standen, so wiesen sie keine äußeren Unterscheidungsmerkmale auf. In dieser Beziehung war demnach der Versuch resultatlos verlaufen, jedoch bestätigte er die frühere Wahrnehmung, daß junge Reblauslarven von der Erdoberfläche her eine Verseuchung der Rebenwurzeln bewirken können.

Es können sich selbst an abgeschnittenen, nicht weiter wachsenden Rebenwurzeln junge Rebläuse ansiedeln und ihre ganze Entwickelung bis zur Eiablage durchmachen. Doch schien die Eiablage, mit normalen Verhältnissen verglichen, erheblich vermindert.

Eine Anzahl Versuche soll darlegen, wie lange Rebläuse der wurzelbewohnenden Form, nachdem sie die Wurzeln verlassen haben, ohne Nahrung außerhalb des Erdbodens leben können. Es wurden zunächst eine Anzahl großer, eierlegender und einige noch nicht zum Eierlegen reife Läuse durch einen flachen Schnitt von den Wurzeln, auf denen sie sich befanden, getrennt. (Die so abgeschnittenen kleinen Wurzelstücken trocknen rasch ein und werden dann von den Tieren freiwillig verlassen, während sie bei gewaltsamer Entfernung von ihren Plätzen leicht beschädigt werden.) Am 24. Aug. vormittags wurden diese Wurzelstücken in eine gläserne Doppelschale gebracht, deren Boden mit einer Lage weißen Schreibpapieres bedeckt war. Schon am 26. Aug. waren fast alle Tiere gebräunt und geschrumpft. Bis zum 30. Aug. waren sämtliche Läuse und Eier stark geschrumpft und tot. Bei einem ebenfalls am 24. Aug. begonnenen Versuche befand sich unter dem Schreibpapier eine Lage feucht gehaltenen Filtrierpapiers. Am 26. Aug. waren alle Läuse auf das unten nun auch trocken gewordene Papier gewandert, wo sie größtenteils mit angezogenen Beinen auf dem Rücken lagen. Auf beiden Papierschichten fanden sich noch gut erhaltene Eier. Das untere Papier ward wieder angefeuchtet. Bis zum 12. Sept. konnten teils auf dem oberen, teils auf dem unteren Papier frisch ausgeschlüpfte Rebläuse wahrgenommen werden, im ganzen 18 Stück. Am 13. und 14. endlich schien alles Leben erloschen. Bei diesen Versuchen wurde beobachtet, daß die ihrer Nahrung beraubten, aus der Erde genommenen Läuse bald zugrunde gehen, daß dagegen Reblauseier, besonders in fortgeschrittenerem Stadium, ziemlich lange außerhalb der Erde verweilen können, wenn nur die umgebende Luft etwas feucht ist.

In den Frühjahren 1904, 1905 und 1906 wurden Untersuchungen ausgeführt, welche über den Stand der Entwickelung der Reblaus zu dieser Jahreszeit Aufschluß geben sollten. Im Frühjahr 1904 konnten auf Grund der am 31. März abgebrochenen Untersuchungen keine aus der Winterruhe erwachten Rebläuse gefunden werden. Von 229 Rebläusen, die in der Zeit vom 8.—12. Mai 1905 gefunden wurden, gehörten rund 97 Proz. noch der überwinternden Form an, und zwar wurde beobachtet, daß die Winterruhe von um so längerer Dauer ist, je tiefer sich die Läuse unter der Erdoberfläche befinden. — Im Jahre 1906 wurden die Beobachtungen in der Zeit vom 14. Mai bis 2. Juni fortgesetzt. Die erste Hälfte des Mai war trocken und warm, am 15. Mai trat nach einem Gewitter starke Abkühlung und regnerisches Wetter ein. Am 14. Mai fanden sich an bis bleistiftdicken Wurzeln aus den oberen Bodenschichten sehr zahlreiche, zum größten Teil frische Tuberositäten, auf und neben welchen in Gruppen oder Reihen Rebläuse festsaßen. Es wurden eierlegende Läuse und solche, die nahe vor der Eiablage standen, beobachtet. Ferner fanden sich zahlreiche zwischen der zweiten und dritten Häutung stehende Tiere. Es wurden am 14. Mai nur wenig Läuse gefunden, die noch vor der zweiten Häutung standen. Da erst wenig Eier vorhanden waren und weiter entwickelte Eier völlig fehlten, so schloß Verf., daß die Eiablage erst in allerletzter Zeit begonnen hatte. An Wurzeln, die am 15. Mai entnommen wurden, fanden sich neben vor der Eiablage stehenden Läusen noch zwei von der Winterform, sowie Tiere, die vor der zweiten und vor der dritten Häutung standen. Bei der Weiteruntersuchung am 16. Mai wurden an einer Wurzel viele Läuse der Winterform, zerstreut liegende Eier, sowie birnförmige erwachsene Rebläuse gefunden. Die außerdem aufgefundenen Tuberositäten stellten bereits die Folgen der Tätigkeit der überwinterten Generation dar. Die untersuchten Wurzeln waren bis zu einer Tiefe von höchstens 20 cm unter der Erdoberfläche entnommen. An einer zwirnfadendünnen Wurzel wurde eine frische Nodosität gefunden, an der eine zwischen der ersten und zweiten Häutung stehende Reblaus saß. Es werden also auch die ersten Nodositäten der bereits verseucht gewesenen Reben im Frühjahr durch überwinterte Tiere der letzten Generation des Vorjahres erzeugt. Am 22. Mai wurden an Wurzeln aus 10—15 cm Tiefe in der Entwickelung fortgeschrittenere Eier gefunden. An Wurzeln aus 25—30 cm Tiefe wurden am 21. Mai noch Tiere der Winterform angetroffen, außerdem auch eierlegende Tiere und auch Eier, an denen aber noch keine Entwickelung sichtbar war. Die Entwickelung der Rebläuse in größerer Tiefe schien hinter der von Tieren aus geringerer Tiefe zurückzustehen. Am 25. Mai 1906 wurden an Wurzeln aus 10—15 cm Tiefe zwei vor der ersten Häutung stehende wandernde Rebläuse gefunden, die somit der ersten Reblausgeneration des Jahres 1906 angehörten. Am gleichen Tage wurden an Wurzeln aus 30—40 cm Tiefe noch zahlreiche Läuse der Winterform und Tiere verschiedener Entwickelungsstufen gefunden. Auch hier wurde eine frisch aus dem Ei geschlüpfte, lebhaft wandernde Reblaus beobachtet. An am 28. Mai entnommenen Wurzeln nahm Verf. wahr, daß an stärkeren Wurzeln Tiere der Winterform und dieser entstammende Entwickelungsstufen vorherrschten, während an dünneren Wurzeln Läuse der Winterform fast ganz fehlten und vorwiegend eierlegende Tiere gefunden wurden. Vom 30. Mai 1906 an konnten auch bei 50 cm Tiefe zahlreiche wandernde Läuse der ersten Generation 1906 wahrgenommen werden. Demnach schädigten bis Ende Mai unter den vorliegenden Verhältnissen nur die durch den Winter gekommenen Rebläuse des Vorjahres, während erst Anfang Juni die erste Generation 1906 ihre Tätigkeit begann.

Bei Prüfung der Infektionsverhältnisse auf einer verseuchten Parzelle erwiesen sich oft die Wurzeln einzelner oder kleiner Gruppen von Reben als über und über mit Läusen besetzt, während unmittelbar daneben stehende Weinstöcke ganz frei von Rebläusen waren.

Ueber Beobachtungen von Nymphen teilt Verf. folgendes mit: Im Jahre 1896 war die Anzahl der beobachteten Nymphen gegen andere Jahre gering, wahrscheinlich infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse. Die Tiere gehörten sämtlich der langgestreckten orangegelben Form an. Am 24. Aug. wurde eine Nymphe gefunden, die zwei in Bildung begriffene Eier enthielt. Im Jahre 1897 wurden noch am 23. Sept. an einem Wurzelstock mit frischen Wurzeltrieben zahlreiche, mit Nymphen bedeckte Nodositäten gefunden. 1898 wurden am 23. Okt. Nymphen verschiedener Entwickelungsstufen gefunden, und zwar am zahlreichsten an Nodositäten junger Wurzeln, fehlten aber auch nicht an älteren. Im Jahre 1900 wurde festgestellt, daß trotz der herrschenden hohen Temperatur bis zum 19. Juli Nymphen mit Flügelscheiden nicht auftraten, dieselben begannen sich vom 19.—25. Juli vereinzelt zu zeigen und wurden erst vom 26. Juli an in größerer Menge gefunden. An den im Jahre 1902 fortgesetzten Beobachtungen war das auffallend zahlreiche Auftreten der grünlichgelb gefärbten breitovalen Nymphenform von Interesse. Am 30. Aug. wurde eine solche Nymphe zur Beobachtung in ein Doppelschälchen gebracht. Bereits am 1. Sept. war das geflügelte Insekt der Nymphenhülle entschlüpft; es enthielt zwei noch nicht ausgebildete Eier. Eine gelb gefärbte Nymphe wurde am 8. Sept. entnommen. Dieselbe hatte bis zum 12. Sept. eine dunkel orangegelbe Färbung angenommen und zeigte einen deutlich ausgeprägten Brustkorb. Am 20. Sept. wurde an Stelle der Nymphe eine geflügelte Laus vorgefunden, die drei noch unausgebildete Eier enthielt. Eine Häutung der Nymphe wurde während der Beobachtungszeit nicht wahrgenommen. — Die breitovale Nymphenform zeigte eine Länge von 1 mm und eine orangegelbe Nymphe eine Länge von 1,4 mm. In mehreren im September 1903 gefundenen Nymphen war der Beginn der Eibildung wahrnehmbar. — Nasse und kalte Witterung äußert einen hemmenden Einfluß auf das Auftreten von Nymphen und geflügelten Rebläusen. An älteren verholzten Wurzeln bereits abgestorbener oder nur kümmerlich wachsender Reben, die an alte vernichtete Reblausherde angrenzten, wurden Rebläuse, unter ihnen auch Nymphen in spärlicher Menge gefunden.

Um das zur Beobachtung geflügelter Rebläuse nötige Material zu erhalten, spannte Verf. mit Erfolg Filtrierpapierbogen im Versuchsgebiete aus. Die rauhe Papieroberfläche erschwerte den Tieren die Fortbewegung, zudem waren sie auf dem weißen Grunde gut wahrnehmbar. Im Jahre 1897 gewann Verf. folgende Erfahrungen:

Die geflügelten Rebläuse müssen in kolossaler Menge auftreten, denn in nicht ganz 2 Stunden wurden auf 1 qm 22 Stück erbeutet. Nasser Boden, regnerisches und kühles Wetter beeinträchtigen das Auftreten der geflügelten Tiere. Die Verwandlung der Nymphe in die geflügelte Form erfolgt erst, wenn die Nymphe den Erdboden verlassen hat. In bezug auf Tageszeit und Art des Auftretens ergab sich, daß von 10—12 Uhr 86 Proz. der beobachteten Tiere nahe an der Erdoberfläche sich befanden und nur 14 Proz in größerer Höhe, von 2—3 Uhr war das Verhältnis 64 Proz. an der Erde und 36 Proz. in der Höhe. In der Zeit von 3—6 Uhr schwanken die Prozentzahlen und zwischen 6 und 7 Uhr wurden 50 Proz. am Erdboden und 50 Proz. in der Höhe angetroffen.

Bei den in gleicher Richtung im Jahre 1898 angestellten Beobachtungen wurde festgestellt, daß in verhältnismäßig trockenen und warmen Herbsten auch unter unsern klimatischen Verhältnissen die geflügelte Reblaus bis in den Oktober hinein und vielleicht auch noch später anzutreffen ist. Die meisten Exemplare fand Verf. in der Zeit zwischen 4 und 5 Uhr nachmittags.

Die Nachkommen dieser Spätlinge gelangen jedoch nicht mehr zur Entwickelung. Eingehende Längenmessungen der geflügelten Phylloxera ergaben Schwankungen von 0,61—1,35 mm Körperlänge, doch maß die Mehrzahl der Tiere über 1 mm. Die meisten Tiere erbeutete Verf. an Filtrierpapierbogen, die direkt auf der Erde lagen, die nächst hohe Ausbeute lieferten ausgespannte Bogen, während in Spinnweben und endlich an Rebenblättern die wenigsten geflügelten Läuse gefunden wurden.

Im Jahre 1899 wurden an den ausgespannten Filtrierpapierbogen auffallend wenig geflügelte Rebläuse erbeutet, etwa 3 Proz. der Gesamtmenge. Verf. erklärt dies dadurch, daß die alten verseuchten Reben des fraglichen Versuchsfeldes der Pfähle entbehrten und daher niedrig am Boden dahinwuchsen. Die nach dem Licht wandernden Rebläuse gelangen nun an die oberen Teile der niedrig und buschig gewachsenen Reben. Hier fliegen sie ab und werden, bei Abwesenheit von Luftströmungen, entweder die Blätter benachbarter Reben oder, bei dem schrägen Fall ihres Fluges, den Erdboden erreichen. Schwache Luftströmungen kommen aber bei dem niedrigen Wuchse und buschigen Stande vorerwähnter Reben gar nicht zur Geltung. Für diese Erklärung spricht auch, daß die Mehrzahl der in diesem Falle gefundenen geflügelten Läuse an der Oberseite der auf dem Erdboden liegenden Papierbogen gefunden wurde, während z. B. 1897 die meisten Tiere an deren Unterseite saßen. Auch wurden damals 44 Proz. aller Geflügelten in größerer Höhe, also an den ausgespannten Papierbogen gefunden, was im Verein mit der Tatsache, daß die dabei in Betracht kommenden Reben angepfählt waren, sich ganz gut mit der vorliegenden Erklärung in Einklang bringen läßt.

Das Resumé aus dieser Beobachtung ist: Je höher und freier die verseuchten Stöcke eines Reblausherdes gezogen sind, desto wahrscheinlicher ist der Anflug geflügelter Rebläuse in dessen Umgebung. Allerdings vermag eine geflügelte Reblaus für sich allein in der Regel die Seuche nicht weiter zu verschleppen. Im Beobachtungsjahr 1899 wurden die meisten geflügelten Läuse zwischen 2 und 5 Uhr nachmittags beobachtet, und zwar waren es auffallend viel kleine Exemplare. Die Beobachtungszeit war 21. August bis 12. September.

Im Jahre 1900 wurde vom 7. Juli bis 10. August beobachtet, doch gelang es erst vom 27. Juli an geflügelte Läuse aufzufinden, die meisten wurden an der Oberseite der Fangpapiere gefunden. Im Innern der Tiere konnten 1—5 Eier erkannt werden. Besondere Unterscheidungsmerkmale von den später im Jahre auftretenden Geflügelten waren nicht bemerkbar.

Im Jahre 1902 wurden, trotz anfangs sehr begünstigender Witterung, auffallend wenig Geflügelte gefunden.

Die Beobachtungen des Jahres 1903 begannen am 31. August und ergaben eine bedeutende Anzahl von wurzelbewohnenden Läusen, wahrscheinlich eine Folge des milden Winters 1902/03. Weitere günstige Faktoren waren die zahlreich neugebildeten Tauwurzeln und die warme Witterung zu Ende August und Anfang September. Auch für die Nymphen schienen die Bedingungen sehr geeignet gewesen zu sein. In bezug auf geflügelte Läuse wurde den Jahren 1901 und 1902 gegenüber eine erhebliche Zunahme konstatiert. Bei Beginn der Beobachtungen erfolgte das Erscheinen der Geflügelten hauptsächlich zwischen 3 und 6 Uhr, später vorwiegend zwischen 12 und 3 Uhr. Es zeigte sich, daß allzu hohe Temperaturen das Auftreten der Geflügelten hemmen, da eine Temperatur von 50° C geeignet war, von der Wurzel losgelöste Rebläuse zu schädigen, daher wird in heißeren Sommern das Erscheinen der geflügelten Läuse mehr in den späten Nachmittagsstunden, in kühlem Sommer hingegen in den früheren zu erwarten sein. Die im Körper der Läuse gefundenen Eier schienen in einem beobachteten Falle zweierlei Typen anzugehören.

Im Jahre 1904 (13. September bis 5. Oktober) wurden fast gar keine frischen Nodositäten gefunden, wahrscheinlich infolge der außerordentlichen Trockenheit des vorhergehenden Sommers. Gleichzeitig machte sich auch der Mangel an Nymphen geltend. Infolge dieses Fehlens wurden auch nur wenig geflügelte Rebläuse beobachtet. Dafür wurden enorme Mengen junger Wurzelläuse, vor und nach der ersten Häutung stehend, gefunden, während eierlegende Muttertiere verhältnismäßig selten waren.

Die Beobachtungen des Jahres 1906 lieferten nichts wesentlich Neues.

Eine bedeutsame Tatsache ging aus den Untersuchungen dieser ganzen Jahre hervor: die Eier der einzelnen geflügelten Reblaus sind in der Regel von einerlei Form. Folglich scheint die geflügelte Reblaus nicht die ihr vielfach zugeschriebene Bedeutung für die Verbreitung des Uebels besitzen.

Das nächste Kapitel seiner Arbeit widmet Verf. einer Betrachtung der Geschlechtstiere. Auch über die Entwickelung der Eier der geflügelten Rebläuse sind hier Notizen niedergelegt. Hiernach verläßt das Tier das Ei nach etwa 8 Tagen. Die gelbe Farbe wird allmählich dunkler und nach weiteren 10 Tagen sind auch Fühler und Beine der jungen Laus völlig entwickelt. Die abgestreiften Eihäute hafteten noch lange am Körperende an. Die völlige Entwickelung des zur Beobachtung vorgelegenen Tieres, eines Geschlechtsweibchens, hatte von der Eiablage an etwa 4 Wochen gedauert, während bei früheren Beobachtungen die längste Zeitdauer der Entwickelung immer noch 10 Tage weniger betragen hatte. Ein zweiter in dieser Richtung angestellter Versuch ergab indessen das gleiche Resultat wie der erste. Diese Verzögerung lag offenbar daran, daß im Beobachtungsjahr die zweite Hälfte des August und den September über regnerische und kühle Witterung herrschte. Die Lebensdauer der Geschlechtstiere wurde in mehreren Fällen auf 4 Tage festgestellt, jedoch blieb eines, trotz der Unfähigkeit dieser Form, Nahrung aufzunehmen, fast 14 Tage am Leben. Der Ort der Eiablage der geflügelten Läuse war dicht an einem Blattnerv oder in dem von zwei Nerven gebildeten Winkel. Messungen an Eiern des größeren Typus ergaben im Mittel 0,36 mm Länge und etwa 0,18 mm Breite. Diese größeren Eier liefern vermutlich Geschlechtsweibchen. Die Eier des kleinen Typus, aus denen wahrscheinlich Männchen hervorgehen, waren etwa 0,27 mm lang und 0,13 mm breit. In Bezug auf die Entwickelung teilt Verf. noch mit, daß der Zeitraum zwischen der Ablage des Eies und dem Sichtbarwerden des Scheitelkammes und der Augenflecke des Embryos von 2 bis zu 17 Tagen schwankt, und daß, je länger dieser Zeitraum war, umso länger auch die Frist war, in der sich die ausgeschlüpften Geschlechtsweibchen in lethargischem Zustande befanden. Bei den Eiern des kleinen Typus ging im allgemeinen die Entwickelung des Embryos viel langsamer vor sich. Die Entwickelung der Männchen dauert somit erheblich länger als die der Weibchen, die Ursachen konnten nicht ergründet werden. Temperaturverhältnisse kommen jedoch nicht in Frage. Die im Jahre 1900 vom 6. Juli bis 10. August angestellten Beobachtungen sollten nun die Frage beantworten, ob die schon zu dieser Zeit auftretenden Geflügelten parthenogenetisch sich entwickelnde Nachkommen haben, die unmittelbar an die Wurzeln wandern oder ob schon Eier abgelegt werden, aus denen Geschlechtstiere hervorgehen. Leider ließ sich diese Frage jedoch nicht entscheiden. Eine Messung eines Geschlechtsweibchens ergab eine Länge von 0,55 mm. Das durch den Körper sichtbare einzige Ei war 0,28—0,29 mm lang. Die Schnelligkeit der Fortbewegung betrug in einem gemessenen Fall 9,3 cm in 5 Minuten.

Im nächsten Teil seiner Arbeit teilt Verf. Beobachtungen verschiedener Art mit und beginnt mit einigen Mitteilungen über die der Reblaus nahe verwandte Phylloxera quercus. Die Geschlechtstiere dieser Art zeigen große Aehnlichkeit mit der entsprechenden Entwickelungsform der Reblaus und treten auch ziemlich zu derselben Zeit auf. Es konnte auch der Begattungsakt und die am Nachmittag des nächsten

Tages erfolgende Ablage eines Eies beobachtet werden. Die Länge des Geschlechtsweibchens betrug 0,41 mm, die des Männchens 0,28 mm, die des Eies 0,27 mm. Das Ei erschien unmittelbar nach der Ablage gleichmäßig glänzend hellgelb. Am Tage darauf nahm es eine weißlich-grünliche Färbung an und erhielt auf der Oberfläche eine schwarzbraune Tüpfelung.

Der letzte Teil der Abhandlung befaßt sich mit der Prüfung verschiedener Vernichtungsmittel. Zunächst wird das Petroleum auf seine Wirkung untersucht und liefert folgende Resultate: Selbst 20½-stündiges Untertauchen in Petroleum von ca. 16° C genügt nicht, um mit Sicherheit alle davon betroffenen Rebläuse und namentlich deren Eier gleich zu töten. Die Läuse werden zwar bald zugrunde gehen, doch können die Eier zur vollen Entwickelung gelangen. Mit Lysollösungen angestellte Versuche gaben etwa folgende Resultate: Unzweifelhafte Abtötung aller Läuse und Eier wurde bei folgenden Versuchsanordnungen erzielt: 1) ¾-stündige Einwirkung einer 1-proz. Lysollösung; 2) 50 Minuten lange Einwirkung einer 2-proz. Lysollösung; 3) 35 Minuten lange Einwirkung einer 4-proz. Lysollösung; 4) 15 Minuten lange Einwirkung einer 10-proz. Lysollösung; 5) Bloßes Untertauchen der befallenen Wurzeln in 5-proz. Lysollösung; 6) 15 Minuten lange Einwirkung einer 5-proz. Lysollösung. Die Konzentrationen verstehen sich auf Volumenprozente. Bei den sonstigen Versuchen erfolgte die Tötung nicht oder unvollständig.

Verf. stellte nunmehr eine Reihe von Versuchen mit Kresolwasser an, d. h. einer Lösung von 10 Teilen Kresolseife in 100 Teilen Wasser. Völlige Tötung aller Entwickelungsformen wurde in folgenden Fällen erzielt:

1) Bloßes Uebergießen mit Kresolwasser. 2) 11—30 Minuten langes Verbleiben in unverdünntem Kresolwasser. 3) Einstündige Einwirkung 2-proz. Kresolseifenlösung. 4) 30 Minuten lange Einwirkung 4-proz. Kresolseifenlösung. 5) Behandeln mit Kresolwasser, das mit Quellwasser bereitet worden war. (Ein gleicher Versuch mit mit destilliertem Wasser bereitetem Kresolwasser hatte nicht eine vollständige Abtötung herbeigeführt.) 6) Uebergießen mit auf 25° C erwärmtem Kresolwasser. 7) Eintauchen in auf 33° C erwärmtes Kresolwasser. 8) Eintauchen in 50-proz. Kresolwasser von 32,5° C. 9) Eintauchen in 50-proz. Kresolwasser von gewöhnlicher Temperatur. 10) 5 Minuten lange Einwirkung von Kresolwasser. 11) 15 Minuten lange Einwirkung von Kresolwasser und darauffolgendes Abspülen mit Wasser.

Verf. stellte bei diesen Versuchen fest, daß Erwärmen des Kresolwassers auf etwas über 30° keine wesentlichen Vorteile bietet. Zum Zweck der Kontrolle wurden Wurzeln mit Rebläusen bis zu 30 Minuten unter Wasser gehalten, wobei jedoch alles am Leben blieb. Von den drei Kresolen ist das Orthokresol dem Meta- und Parakresol an vernichtender Wirkung überlegen.

Bei der Prüfung des heißen Wassers als Reblausvernichtungsmittel ergab sich, daß Wasser von 47° Läuse und Eier abtötet, Wasser von 44,7° jedoch nicht.

Am Schluß gibt Verf. noch eine Zusammenstellung über die Wirkung verschiedener Vernichtungsmittel. Aus derselben geht hervor, daß eine völlige Tötung erzielt wird durch Dufoursche Lösung von 10 Minuten langer Einwirkungsdauer an, ferner scheint das Rohpyridin ein wirksames Tötungsmittel zu sein. Denaturierter Spiritus bewährte sich bei 25,5° Temperatur und 20 Minuten langer Einwirkung.

Marshall (Halle a. S.).

Spieker, Versuche mit verschiedenen Spritzmitteln auf dem Obstgut Walthersberg. (Deutsche Obstbauzeitung. Jahrg. 54. 1908. Heft 23/24.)

Bespritzungen wurden ausgeführt mit: Karbolineum, Karbolineum und Kupferkalk, mit Bordelaiser Brühe.

Die Ergebnisse der Versuche sind dahin zusammengefaßt, daß sich das Spritzen mit Karbolineum zur Bekämpfung des Fusicladiums als unwirksam erwies, daß dagegen die mehrmalige Anwendung der 2-proz. Kupfervitriolkalkbrühe im Sommer eine einschränkende Wirkung hatte.

Schaffnit (Bromberg).

Beobachtungen bei der Verwendung von Karbolineummitteln. (Deutsche Obstbauzeitung. Jahrg. 54. 1908. Heft 23/24.)

Eine Reihe von Praktikern berichtet hier über die Resultate von Bespritzungsversuchen mit verschiedenen Karbolineumarten, aus denen hervorgeht, daß das Karbolineum keineswegs ein Allheilmittel gegen Krankheiten und Schädlinge der Obstbäume ist, daß seine Anwendung vielfach sogar Schädigungen hervorgerufen hat und daher mit Vorsicht erfolgen muß.

Schaffnit (Bromberg).

Lüstner, G., Versuche mit Karbolineumemulsionen. (Bericht der Kgl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1907 [1908]. p. 346—348.)

Diese Versuche, eine Fortsetzung der früher veröffentlichten, sollten vor allem den Einfluß verschiedener, im Handel vorkommender Karbolineumemulsionen auf das Laub der Bäume feststellen. Daneben wurden noch selbst hergestellte Emulsionen mit Nördlingers Karbolineum geprüft. Letztere kamen 1—5-proz. zur Anwendung, Schachts Karbolineum Marke A 5-, 10- und 15-proz., Marke B 30- und 50-proz. In allen diesen Fällen verursachte die am 11. September vorgenommene Bespritzung keine oder doch keine nennenswerte Beschädigung, dagegen wurden durch Hinsbergs Laurilkarbolineum bei 10 Proz. geringere, bei 15 und 20 Proz. erhebliche Beschädigungen angerichtet.

Morstatt (Geisenheim).

Kelhofer, W., Ueber einige Gesichtspunkte bei der Herstellung der Bordeauxbrühe. (Intern. phytopath. Dienst. Jahrg. I. 1908. p. 65—73.)

Verf. erörtert die Frage der Beschaffenheit und Wirksamkeit und Haltbarkeit der Bordeauxbrühe, welche abhängig ist von den Mengenverhältnissen zwischen Kupfervitriol und Kalk, der Zubereitungsweise und den konservierenden Zusatzstoffen.

Schaffnit (Bromberg).

Matenaers, Das Besprenkeln der Kartoffeln als sicheres Schutzmittel gegen Krankheiten. (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 56.)

Verf. schildert das in den Vereinigten Staaten von Nordamerika übliche Bespritzen der wachsenden Kartoffeln als Schutzmittel gegen Insekten- und Pilzbefall.

Das Besprenkeln erfolgt zum ersten Male, wenn die Kartoffeln etwa 6—8 Zoll hoch aus dem Boden sind, alsdann wird es in Zwischenräumen von 10—14 Tagen während der ganzen Vegetationsperiode der Kartoffeln wiederholt. Im allgemeinen genügt ein sechsmaliges Besprenkeln des

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kartoffelfeldes. Zur Verwendung kommt die bekannte Kupfervitriolkalklösung. Diese Lösung erwies sich in Nordamerika am wirksamsten, wenn sie beim ersten Bespritzen aus 4 Pfd. Kupfervitriol, 4 Pfd. Kalk und 50 Gallonen (1 Gallone = 4,543 Liter) Wasser bestand, und wenn in der Folge die Kupfervitriolmenge auf 6 Pfd. erhöht wurde. Für die Bekämpfung stark auftretender tierischer Schädlinge wurden noch 1 bis 2 Pfd. Pariser Grün zugesetzt. Pro Acre (0,4 ha) kamen durchschnittlich bei jedesmaliger Bespritzung 50 Gallonen Flüssigkeit zur Verwendung.

In der beschriebenen Ausführung erwies sich das Besprenkeln als wirksames Schutzmittel gegen alle dort auftretenden Kartoffelkrankheiten und -Schädlinge, besonders dann, wenn gleichzeitig für gesundes Saatgut gesorgt, und auch durch einen richtigen Fruchtwechsel der Vermehrung der Schädlinge entgegengetreten wurde.

Zehnjährige Versuche bei Landwirten des Staates New York haben die Brauchbarkeit und Rentabilität des Verfahrens deutlich erwiesen.

Vogel (Bromberg).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Fuhrmann, F., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. gr. 8°. V. + 88 pp. 3 Taf. 33 Abbild. im Text. Jena (G. Fischer) 1908.)

Seit es immer mehr Sitte geworden ist, Abbildungen statt in Form von Zeichnungen, durch die viel weniger zeitraubende Photographie zu ersetzen, war ein kurzer Leitfaden über Mikrophotographie sehr angebracht. Dem Verf. ist es gut gelungen, das Wesentliche hierüber in einem kurzen Buch zusammenzustellen. Der Leitfaden ist zwar mit besonderer Berücksichtigung der Mykologie geschrieben, er wird aber für die Anfertigung von Mikrophotogrammen auch in anderen Wissensgebieten sicher genau den gleichen Dienst leisten.

Unter den guten mikrophotographischen Apparaten — und solche sind allein für die hohen Anforderungen brauchbar, welche man an ein Photogramm stellen muß, das Zeichnungen ersetzen soll — haben sich die der Firma C. Zeiss in Jena am besten bewährt; deshalb bespricht Verf. in seiner Schrift den Zeissschen Apparat am ausführlichsten. In den zehn Kapiteln erklärt er uns die mikroskopische Einrichtung, ihre Aufstellung und Zentrierung, wir erfahren das Nötige über Lichtquellen, Lichtfilter, geeignete photographische Platten, über das Aufnahmeverfahren, den Negativ- und den Positivprozeß. In dem Abschnitte über die technische Vervielfältigung der photographischen Aufnahmen durch Autotypie, Spitzertypie, Lichtdruck und Heliogravüre macht uns der Verf. mit diesen Methoden bekannt, während auf den drei beigefügten Tafeln ihre Leistungsfähigkeit in bezug auf naturgetreue Wiedergabe zu erkennen ist. In dem Schlußkapitel findet man kurze Angaben über das Anfertigen von Präparaten, die für die Mikrophotographie tauglich sind.

Der Leitfaden wird in alle größeren Laboratorien, die sich mit Mikrophotographie befassen, als geeignete Lektüre zur Einführung in das Gebiet seinen Weg finden. K. Müller (Augustenberg i. B.).

Friedberger, E., Versuche über die Verwendbarkeit der amerikanischen Schnellfiltration (Filter der Jewell Filter

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Company) für die Königsberger Wasserversorgung. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. LXI. 1908. No. 3. p. 355.)

Die günstigen Berichte von **Bitter** und **Gotschlich** über die günstigen Wirkungen der amerikanischen Schnellfiltration für die Trinkwasserversorgung von Alexandrien bezüglich der Keimreduktion des Nilwassers veranlassen den Verf., Untersuchungen mitzuteilen, welche er mittels des gleichen Verfahrens an dem Königsberger Rohwasser ausführte. Die Versuche führten entsprechend der andersartigen Beschaffenheit des Königsberger Wassers bezüglich der Keimreduktion nicht zu gleich glänzenden Resultaten, wohl aber bezüglich Entfärbung und Entfernung des Eisens aus dem Wasser. — Die Wasserversorgung von Königsberg geschieht zurzeit nur durch Oberflächenwasser, welches aus dem Niederschlagsgebiet westlich und nördlich der Stadt nach Ansammlung in Stauteichen der Stadt zufließt. Das Wasser der westlich der Stadt gelegenen Landgrabenteichgruppe wird durch den 17 325 m langen offenen Landgraben mit 1,38 m Gefälle der Stadt zugeführt. Die Landgrabenleitung liefert die Hauptmasse das Wassers für die Königsberger Wasserversorgung. Die nördlich der Stadt gelegene Teichgruppe gibt ihr Wasser durch den gleichfalls offenen „Wirrgraben", teils durch den „Aufschlußkanal" unterirdisch ab. Das Königsberger Rohwasser ist keimarm, aber reich an Eisen, an Huminsäuren gebunden und hat eine moorbraune Färbung, sowie modrigen Geschmack und Geruch. Die langsame Sandfiltration erwies sich als nicht geeignet, das Königsberger Rohwasser in tadelloses Trinkwasser zu verwandeln. Es wurde deshalb eine Versuchsanlage für die amerikanische Schnellfiltration errichtet, bestehend aus einem Sedimentiergefäß, einem Behälter für Alaunlösung und dem eigentlichen Filter.

Bei der amerikanischen Methode wird dem Wasser ein Fällungsmittel, Alaun oder Eisensalze oder (in der Regel) schwefelsaure Tonerde zugesetzt. Diese verbindet sich mit dem im Wasser vorhandenen kohlensauren Kalk oder Magnesium. Aluminiumhydrat fällt in der Form voluminöser, gelatinöser Flocken aus, welche beim Entstehen die feinsten Suspensionen, Bakterien und Huminsubstanzen umhüllen. Die Flocken fallen teils in den Sedimentierbottichen zu Boden, teils bilden sie auf der Sandschicht des Filters die künstliche Filterdecke, welche Suspensionen und Bakterien am Durchtritt hindert. Der amerikanische Filter arbeitet $2^1/_2$—3 m Druckdifferenz und einer die langsame Sandfiltration um das 40—50-fache übersteigenden Geschwindigkeit.

Die eingehend geschilderten Versuche ergaben, daß die Alaunbehandlung des Königsberger Wassers besonders geeignet zu sein scheint. Die Alaunisierung beseitigt besser als jedes andere Verfahren die Trübung, die gelbe Farbe und den Eisengehalt. Dagegen garantiert die nachherige Sandfiltration bei keimreichen Wässern, wie dem Land- und Wirrgrabenwasser, wenn man nicht sehr große Mengen Alaun benutzt, keine so genügende Keimfiltration, daß man sich mit ausschließlicher Schnellfiltration begnügen durfte. Weiterhin erschwert der hohe Gehalt an Schwebestoffen in diesen Wässern den Betrieb und die häufig wechselnde Beschaffenheit dieser Rohwässer macht eine häufige Variierung der Alaunbehandlung notwendig, was recht schwierig ist. Als besonders geeignet für die Königsberger Verhältnisse erscheint Schnellfiltration in Verbindung mit langsamer Sandfiltration (als Vorfiltration). Man kommt so mit kurzer Sedimentierungsdauer und kleineren Alaunmengen aus.

Das „Aufschlußwasser" eignet sich im Gegensatz zu den anderen

Zuflüssen wegen geringen Gehaltes an Bakterien, wegen geringen Gehaltes an Bakterien und Schwebestoffen und seiner konstanteren Beschaffenheit für die Schnellfiltration, doch macht der modrige Geschmack und Geruch eine nachfolgende langsame Filtration nötig.

Schill (Dresden).

Heinemann, P. G. and **Glenn, T. H.**, A comparison of practical methods for determining the bacterial content of milk. (Journ. of infect. Diseases. Vol. V. 1908, No. 4. p. 412.)

Im Hinblick darauf, daß die Methoden der bakteriologischen Milchuntersuchung in den verschiedenen Laboratorien sehr verschieden gehandhabt werden, hat die „american public association“ ein Komitee ernannt, das eine Standardmethode der Milchkontrolle festsetzen soll. Darauf nimmt die vorliegende, aus dem bakteriologischen Laboratorium der Universität Chicago stammende Arbeit Bezug.

Der Bakteriengehalt der Milch setzt sich nach den Verff. aus folgenden Komponenten zusammen:

1) Bakterien, die aus der Luft in die Milch hineingekommen sind;
2) Faecesbakterien der Kühe;
3) Bakterien, die von den Händen und Kleidern der Melker herrühren;
4) solche, die beim Melken von der Kuh hineinfallen;
5) Bakterien, die aus den Melkgefäßen herrühren;
6) pathogenen Bakterien.

Die unter 2, 4 und 5 genannten sind hauptsächlich Fäkalbakterien und als solche Säurebildner, während die aus der Luft stammenden (1) gewöhnlich keine Säure bilden.

Die pathogenen Bakterien sind im allgemeinen in geringer Anzahl in der Milch vorhanden und meist deswegen nicht aufzufinden.

Nach diesen Gesichtspunkten muß sich die bakteriologische Milchuntersuchung richten.

Obwohl die menschenpathogenen Bakterien bei 37° besser wachsen als bei 20°, ist die letztere Temperatur bei derartigen Milchuntersuchungen doch vorzuziehen, da sie vor allem das Verhältnis der säurebildenden und der nicht säurebildenden Bakterien, auf das es bei der Beurteilung der Herkunft der Keime ankommt, besser zum Ausdruck bringt. Die Verwendung von Agar empfiehlt sich mehr als die von Gelatine, weil die Tätigkeit der peptonisierenden Bakterien eine Bestimmung der Gesamtzahl der Keime erschwert.

Die Anlage der Platten wird am besten so vorgenommen, daß man die zu untersuchende Milch in verschiedenen Verdünnungen mit Lackmuslösung in Petri-Schalen mischt und dann verflüssigten Zuckeragar (zu bester Dextrose) hinzufügt. Manteufel (Gr.-Lichterfelde).

Löhnis, Die Beurteilung der Milch mit Hilfe der Gärproben. (Milchzeitung. 1908. No. 41. p. 484.)

Beim Preisrichten der Milch auf den Ausstellungen der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft wird gefordert, daß die Milch bei Temperaturen „unter 15° C“ aufbewahrt wird. Verf. hält es auf Grund seiner Beobachtungen jedoch für notwendig, daß in Zukunft eine Aufbewahrungstemperatur von 10—12° C zur Bedingung gemacht wird. Die in Leipzig ausgeführten Versuche zeigten mit größter Deutlichkeit, daß nach dem angewandten Richtverfahren in der Tat eine mit größtmöglicher Sorgfalt

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gewonnene Milch mit Bestimmtheit auf die Erteilung des ersten Preises rechnen darf, daher also auch die vorgeschriebene Gärprobe mit Labzusatz zuverlässige Anhaltspunkte für die Beurteilung der Güte der Milch gibt. Bedingung ist dabei jedoch die Aufbewahrung der Milch unter 12° C, weil höhere Aufbewahrungstemperaturen auch bei einer sehr guten Milch zur Bildung eines weniger schönen, gelochten Käschens bei der Gärprobe Veranlassung geben können. Verf. zieht die folgenden Schlüsse:

1) Das auf den Ausstellungen der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft für das Richten der Frischmilch angewandte Verfahren ist an sich einwandfrei; es stellt eine sehr scharfe, aber durchaus gerechte Art der Milchprüfung dar. Unbedingt notwendig ist es hierbei jedoch, daß die zur Prüfung bestimmte Milch bei einer Temperatur unter 12° C aufbewahrt wird.

2) Das benutzte Verfahren, insbesondere die Gärprobe der unvermischten sowie der mit Lab versetzten Milch erweist sich auch für die Betriebskontrolle als ein ausgezeichnetes Hilfsmittel. Sowohl über den ganzen Betrieb wie über die einzelnen Teile desselben gewährt der Ausfall derartiger Prüfungen ein sehr sicheres Urteil. Dabei darf aber nicht übersehen werden, daß es sich mitunter als zweckmäßig erweist, eine sinngemäße Aenderung des Verfahrens eintreten zu lassen.

Vogel (Bromberg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Coste-Floret, P., Les travaux du vignoble, plantations, culture, défense contre les insectes et maladies de la vigne. 2. édition. Montpellier 1907. 480 p. 8°. M. Fig. 5 M.

Gillanders, A. T., Forest entomology. Edinburgh and London 1908. 422 p. 8°. M. Fig.

Gordan, P. und **Bahr, C.**, Bakterienkunde für landwirtschaftliche und Molkerei-Lehranstalten, wie für die landwirtschaftliche Praxis. Berlin (Parey) 1909. 63 p. 23 Fig. 1 M.

Gutzeit, Ernst, Die Bakterien im Kreislauf des Stoffes in der Natur und im Haushalt des Menschen. Leipzig (Teubner) 1908. VI, 138 p. 8°. (= Natur und Geisteswelt. N. 233.) 1 M.

Harding, H. A., Bacteriological investigations (A summary of bacteriological work at the Station from 1882 to 1907). (26. ann. rep. of the New York assoc. exper. stat. Part 3: 25. anniversary report. Albany 1908. 9 p.)

Zimmermann, Bericht der Hauptsammelstelle Rostock für Pflanzenschutz in den Gebieten Mecklenburg-Schwerin und -Strelitz im Jahre 1907. (Ann. Mecklenburg. patriot. Ver. N. F. Bd. XLVII. 1908. p. 50—54.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bertarelli, E., Ultrafilter und Ultrafiltration. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XLII. 1908. N. 22/23. p. 721—726.)

Fuhrmann, Franz, Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. Jena (Fischer) 1909. V, 88 p. 8°. 3 Taf. u. 33 Fig. 3 M.

Systematik, Morphologie.

Börner, Carl, Ueber Chermesiden. 4. Dreyfusia piceae (Ratz.) und nüsslini n. sp. (Zool. Anz. Bd. XXXIII. 1908. N. 22/23. p. 737—750. 4 Fig.)

Awerinzew, S., Ueber die Gregarinen aus dem Darme von Amphiporus sp. (Zool. Anz. Bd. XXXIII. 1908. N. 19/20. p. 685—687. 1 Fig.)

—, Studien über parasitische Protozoen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. XIV. 1909. Heft 1. p. 74—112. 2 Taf.)

Doflein, Franz, Probleme der Protistenkunde. Jena (Fischer) 1909. 8⁰.

—, Die Trypanosomen. Ihre Bedeutung f. Zoologie, Medizin u. Kolonialwirtsch. Jena (Fischer) 1909. 57 S. 8⁰.

Fraser, H. C. J. and **Welsford, E. J.,** Further contributions to the cytology of the Ascomycetes. (Ann. of botany. Vol. XXII. 1908. N. 87. p. 465—477. 2 Taf. u. 1 Fig.)

Griggs, R. F., On the cytology of Synchytrium 3. (Ohio Natur. Vol. VIII. 1908. p. 277—286. 2 Taf.)

Hallas, Emma, Om Oedogonium inclusum Hirn. (Bot. Tidsskrift. Bd. XXVIII. 1908. Heft 2. p. 211—213. 1 Fig.)

Hustedt, Fr., Ueber eine neue endophytisch lebende Dactylococcopsis-Art. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 3. p. 140—141. 3 Fig.)

Jaap, Otto, Mykologisches aus dem Rhöngebirge (Schluß). (Allg. bot. Ztschr. Jg. XIV. 1908. p. 5—7.)

Jungano, Sur la flore intestinale de la roussette. Bacilles sporogenes non liquefaciens anaérobie. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 38. p. 716—718. 1 Fig.)

Lendner, A., Cinq espèces nouvelles du genre Mucor. (Bull. Herb. Boiss. T. VIII. 1908. p. 77—78.)

Lindinger, L., Die Schildlausgattung Gymnaspis. (Dtsche entomol. Ztschr. 1909. Heft 1. p. 148—153. 2 Fig.)

—, Ein neuer Orchideenschädling, Leucodiaspis cockerelli (de Charm.) Green. (Jahrb. d. Hamburg. wiss. Anstalt. Bd. XXV. 1907. 1. Beih. Arb. d. bot. Staatsinstitute. 1908. p. 121—124. 1 Taf.)

—, Zwei Lorbeerschädlinge aus der Familie der Schildläuse. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 6. p. 321—336. 1 Taf. u. 2 Fig.)

Maffei, Luigi, Sopra una nuova specie di Ascomicete. (Atti d. Istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 325—326.)

Magnus, P., Eine neue Tilletia aus Serbien. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 3. p. 145—146. 7 Fig.)

—, Ueber drei parasitische Pilze Argentiniens. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 3. p. 147—151. 5 Fig.)

Monticelli, Fr. Sav., Il genere Nitzschia von Baer. (Annuario Mus. Zool. d. R. Univ. Napoli. Vol. II. 1908. N. 27. 19 p. 1 Taf. u. 5 Fig.)

Murrill, W. A., Additional Philippine Polyporaceae. (Bull. Torr. bot. Club. 35. 1908. p. 391—416.)

Němec, B., Ueber die Natur des Bakterienprotoplasten. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXVIa. 1908. Heft 10. p. 809—812.)

Petch, T., The genus Endocalyx, Berkeley and Broome. (Ann. of botany. Vol. XXII. 1908. N. 87. p. 389—400. 1 Taf.)

Rossi, Guido Rosa, Due nuove specie di micromiceti, parassite. (Atti d. Istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 307—308.)

Rostovzev, S. J., Liste des champignons parasites, arrangés selon aux plantes-hospitalières. (Ann. istit. Agron. Moscou T. XIII. 1907.)

Spegazzini, C., Mycetes argentinenses 4. (An. Mus. Nac. Buenos Aires. Vol. XVII. 1908. p. 25—33.)

Trotter, A., Cynips fortii n. sp. Descrizione ad istologia di una nuova galla d'Asia Minore. Marcellia. Vol. VI. 1907. p. 12—23.)

Turconi, Malusio, Nuove micromiceti parassiti. (Atti d. Istit. bot. de Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 314—318.)

—, Nuove micromiceti parassiti. (Atti d. Istit. bot. de Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 314—318.)

Wilson, G. W., Studies in North American Peronosporales 3. New or noteworthy Species. (Bull. Torr. Club. Vol. XXXV. 1908. p. 361—365.)

Biologie.

Barber, M. A., On heredity in certain Microorganism. (Lawrence Kansas Univ. sc. Bull. 1908. 48 p. 4 Taf.)

Bock, R., Beiträge zur Biologie der Uredineen. Diss. Jena (G. Fischer) 1908. 29 p. 8⁰.

Brooks, F. T., Observations on the biology of Botrytis cinerea. (Ann. of botany. Vol. XXII. 1908. N. 87. p. 479—487. 4 Fig.)

Kauffman, C. H., A contribution to the physiology of the Saprolegniaceae, with special reference to the variations of the sexual organs. Ann. of botany. Vol. XXII. 1908. N. 87. p. 361—387. 1 Taf.)

Lazarus, Eleonora, Sur la réaction des milieux pour la bactéridie de Davaine. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 38. p. 730—732.)

Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae Passerini. 2. (Biol. Centralbl. Bd. XXIX. 1909. N. 3. p. 82—96.)

Olive, Edgar W., Sexual cell fusions and vegetative nuclear divisions in the rusts. (Ann. of botany. Vol. XXII. 1908. N. 87. p. 331—360. 1 Taf.)

Pavarino, Luigi, Influenza della Plasmopara viticola sull' assorbimento delle sostanze minerali nelle foglie. (Atti d. Istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 310—314.)

Pinoy, E., Conservation et envoi des cultures de champignons inférieurs. (Bull. de la soc. de pathol. exotique. T. II. 1909. N. 1. p. 60—63.)

Seaver, F. J., Color variation in some of the fungi. (Bull. Torr. bot. Club. Vol. XXXV. 1908. p. 307—314.)

Selby, A. D., On the occurrence of Phytopthora infestans Mont. and Plasmopara cubensis Humph. in Ohio. (Ohio Naturalist. Vol. VII. 1907. p. 79—85.)

Sergueff, M., Le mode de parasitisme de champignons sur les champignons-hôtes et les effets qui en résultent. (Bull. Herb. Boiss. T. VIII. 1908. p. 301—303.)

Stäger, Rob., Beweise für die Entwickelungstheorie aus dem Bereich der parasitischen Pilze. (Natur u. Offenbarung. Bd. LIV. 1908. p. 32—39.)

Welsford, E. J., Fertilization in Ascobolus furfuraceus Pers. (New Phytol. Vol. VI. 1907. p. 156—161.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Don, John, Filtration and purification of water for public health. (Surveyor. Vol. XXXV. 1909. N. 888. p. 86—88. 4 Fig.)

Hilgermann, Robert, Ein bakteriologischer Wasseruntersuchungskasten. (Klin. Jahrb. Bd. XX. 1908. Heft 3. p. 388—390. 1 Fig.)

Saito, K., Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime. Tokyo, Berlin (Friedländer & Sohn) 1908. 78 p. 2 Taf. u. 19 Fig. 8°. (Aus: Journ. College of sc., Imp. Univ. Tokyo). 3 M.

Simon, Joseph, Neuere Ergebnisse bodenbakteriologischer Forschungen, ihr Wert für die landwirtschaftliche Praxis. Vortrag i. d. Oekonom. Ges. i. K. Sachsen zu Dresden. 13. 11. 1908. geh. Dippoldiswalde (Jehne) 1908. 22 p. 8°.

—, Neuere Ergebnisse bodenbakteriologischer Forschungen. ihr Wert für die Praxis. Vortrag. Leipzig (Fritzsche u. Schmidt) 1908. 27 p. 8°. —,80 M.

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Juckenack, J., Ein neues Fruchtkonservierungsmittel. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XVI. 1908. Heft 12. p. 730—732.)

Luhmann, E., Die Konservierung der Nahrungs- u. Genußmittel. (Ztschr. f. d. ges. Kohlensäure-Industrie. Jg. XV. 1909. N. 2. p. 41—43.)

Fleisch.

Bugge, Beiträge zur bakteriologischen Untersuchung des Fleisches notgeschlachteter Tiere. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIX. 1908. Heft 5. p. 165—170.)

Fraenkel, C., Die Verfälschung des Hackfleisches mit schwefelsaurem Natron. (Klin. Jahrb. Bd. XX. 1908. Heft 3. p. 381—387.)

Massi, D., Degli avvelenamenti da carne. (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno XX. 1909. N. 2. p. 33—37.)

Ostertag, R., Leitfaden für Fleischbeschauer. Eine Anweisung f. d. Ausbildung als Fleischbeschauer u. f. d. amtl. Prüfungen. 10. neub. Aufl. Berlin (Schötz) 1909. 8°. XIV, 281 p. 190 Fig. 6,50 M.

Rüther, Ein Wort zur bakteriologischen Fleischbeschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIX. 1909. Heft 5. p. 170—171.)

Savage, William G. and **Gunson, C. Herbert,** An outbreak of poisoning from infected brawn. (Journ. of hyg. Vol. VIII. 1908. N. 5. p. 601—608.)

Milch, Molkerei.

Carles, P., Argent et mycoderme du vinaigre. (Moniteur vinicole. Année LIV. 1909. N. 4. p. 14.)

Fournier, E., Le lait, les maladies contagieuses des bêtes laitières, peut-il être livré à la consommation? (Rec. de méd. vétér. (d'Alfort) T. LXXXVI. 1909. N. 1. p. 20—25.)

Harding, H. A. and **Prucha, M. J.,** The bacterial flora of cheddar cheese. (New York agric. exper. stat. Geneva. Technical Bull. 1908. N. 8. p. 121—193.)

Heinemann, P. G. and **Glenn, T. H.,** Experiments on the germicidal action of cows milk. (Journ. exper. dis. Vol. V. 1908. N. 5. p. 534—541.)

Holterbach, Die Verekelung des Milchgenusses wegen vermeintlicher Ansteckungsgefahr mit Tuberkulose. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIX. N. 2. p. 13—14.)

de Jong, D. A., Pasteuriseeren van melk en het dooden van tuberkelbacillen. (Nederl. Tijdschr. voos Geneesk. Jg. 1909. Eerste Helft. N. 3. p. 147—154.)

Monvoisin, A., Inconvénients du bichromate, de potasse pour la conservation des laits destinés à l'analyse. (Rec. de méd. vétér. (d'Alfort). T. LXXXVI. 1909. N. 1. p. 26—28.)

Weigmann, Huss, H. und **Wolff, A.,** Einige bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. V. 1909. Heft 1. p. 2—12.)

Wolff, A., Ursache und Wesen bitterer Milch. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. V. 1909. Heft 2. p. 67—73.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les vins salicylés. (Moniteur vinicole. Année LIV. 1909. N. 7. p. 26.)

Kayser, E. et **Demolon, A.,** Influence de l'aération sur la formation des produits volatils dans la fermentation alcoolique. (Rev. de viticult. Année XVI. 1908. N. 788. p. 61—64.)

Kulisch, P., Ueber den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXIX. 1908. Heft 1. p. 175—218.)

Langlade, M., La conservation des sirops. (Moniteur vinicole. Année LIV. 1909. N. 4. p. 14.)

Bier, Bierbereitung.

Armstrong, Sidney, Ueber die Wirkung des Lichtes bei Luftinfektion. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVI. 1909. N. 5. p. 54—58.)

Simanowski, N., Mikroorganismen der Krimschen Busà. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVI. 1909. N. 5. p. 58.)

W., Ueber das Pasteurisieren des Bieres. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXVI. 1909. N. 2. p. 20—21.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Auerbach, Friedrich und **Plüddemann, Werner,** Ueber den Verlust an Formaldehyd bei der Desinfektion mit Autan. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXX. 1909. Heft 1. p. 195—215.)

Chick, Harriette and **Martin, C. J.,** The principles involved in the standardisation of disinfectants and the influence of organic matter upon germicidal value. (Journ. of hyg. Vol. VIII. 1908. N. 5. p. 654—697.)

—, —, A comparison of the power of a germicide emulsified or dissolved, with an interpretation of the superiority of the emulsified form. (Journ. of hyg. Vol. VIII. 1908. N. 5. p. 698—703.)

Mair, William, On the rôle of bacteria in the biological methods of sewage purification, with special reference to the process of denitrification. (Journ. of hyg. Vol. VIII. 1908. N. 5. p. 609—653.)

Prior, E. und **Zikes, H.,** Das neue Desinfektionsmittel Pyricit. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXVII. 1909. N. 2. p. 11—12.)

Schneider, Hans, Ueber Desinfektionsmittelprüfung und neuere Desinfektionsmittel. (Dtsche. med. Wchnschr. Jg. XXXV. 1909. N. 4. p. 150—152.)

Trautmann, H., Die Methoden der praktischen Großstadtdesinfektion. (München. med. Wchnschr. Jg. LVI. 1909. N. 5. p. 233—237.)

Vourloud, Quelques recherches sur le pouvoir désinfectant du chinosol. (Rev. méd. de la Suisse Romande. Année XXVIII. 1908. N. 11. p. 720—727.)

Xylander, Vitralin, eine desinfizierende Anstrichfarbe. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. XXIX. 1908. Heft 2. p. 313—336.)

—, Einige weitere Versuche mit Vitralin. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXV. 1909. N. 3. p. 104—106.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Blair, J. C., Bitter rot of apples. (Bull. Illinois Exp. Stat. 1907. p. 481—552. 2 Taf.)

Briosi, Giovanni, Operosità della Stazione di botanica crittogamica di Pavia nell' anno 1906. (Atti d. istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 390—393.)

—, Rassegna crittogamica per il primo semestre dell' anno 1906 con notizie sulle principali malattie di alcune pomacee. (Atti d. istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 361—378.)

Briosi, Giovanni, Rassegna crittogamica per il secondo semestre dell' anno 1906. (Atti d. istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 379—389.)

Broadhurst, J., A disease of Sycamore trees. (Plant World. Vol. X. 1907. p. 213.)

Burrill, T. J., Bitter rot of apples. (Bull. Illinois. Exp. Stat. 1907. p. 553—608. 10 Taf.)

Butler, E. J., Report on Coconut palm disease in Travancore. (Bull. agr. research. Inst. Fusa. 1908. 23 p.)

Camuzet, E., Destruction du Gribouri. (Rev. de viticulture. Anné XVI. 1909. N. 787. p. 52—55. 1 Fig.)

Chateau, E., Quelques zoocécidies recueillis autour de Salornay-sur-Guye. (Bull. soc. hist. nat. Mâcon 1907. N. 1/2.)

Chittenden, F. J., Apple leaf spot. (Journ. R. hort. soc. Vol. XXXIII. 1908. p. 500—511.)

Clinton, G. P., Notes on fungous diseases for 1907. (Connecticut agr. exp. Stat. rep. 1908. p. 339—362.)

—, Root rot of tobacco 2. (Connecticut agr. exp. stat. rep. 1908. p. 363—368.)

—, Heteroecius rusts of Connecticut having a Peridermium for their aecidial stage. (Connecticut agr. exp. stat. rep. 1908. p. 369—396.)

Cobo, N. A., Notes on some diseases of the pine-apple. (Hawaiin for. agr. 4. 1907. p. 123—144.)

Cooke, M. C., Another peach pest. (Journ. R. hort. soc. Vol. XXXIII. 1908. p. 527—528.)

Detmann, Pflanzenkrankheiten in Connecticut. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 285—288.)

Ewert, Erstes Auftreten der Septoria azaleae in Schlesien. (Internat. phytopathol. Dienst. Jg. I. 1909. St. 4. p. 121.)

Feytaud, J., La destruction de l'Eudémis, nouvelles recherches de destruction par les liquides insecticides. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 789. p. 92—97.)

Fulton, H. R., Diseases of pepper and beans. (Bull. Louisiana agr. exp. Stat. 1908. N. 100.)

—, The root disease of sugar cane. (Bull. Louisiana agr. exp. Stat. 1908 N. 100.)

Harshberger, J. W., Teratological notes. (Plant World. Vol. X, 1907. p. 186—189.)

Jäger, Julie, Ueber Kropfmaserbildung am Apfelbaum. (Ztschr. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 257—272. 1 Taf.)

Jarvis, T. D., Preliminary list of the scale insects of Ontario. (Additional insect galls of Ontario). (Ann. rep. entomol. soc. Ontario 1907. N. 38. 4 Taf.)

Kern, F. D., Indiana plants diseases in 1906. (Bull. Purdue. Univ. exp. Stat. 1907. p. 427—432.)

Knischewsky, O., Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 276—285.)

Lefroy, H. Maxwell, The Cotton Leaf-roller (Sylepta derogata Fabr.) Calcutta (Thacker, Spink) 1908. p. 95—110. 4⁰. (Memoirs of the Department of Agric. in India. Entomol. Ser. Vol. II. No. 6.)

Mann, M. H. and **Hutchinson, C. M.,** Cephaleuros virescens Kze., the red rust of tea. Mem. Dep. agr. India 1907. p. 1—133. 8 Taf.)

Massee, G., Die-bock of peach shoots. (Bull. Misc. inform. R. bot. Gard. Kew 1908. p. 269—271. 1 Taf.)

—, Plant diseases 7—8: Clustercup diseases of Conifers (Calyptospora Göppertiana). — Degeneration in potatoes. (Bull. Misc. inform. R. bot. Garden Kew 1907. p. 1—3, 307—311.)

Montemartini, L., Una malattia delle tuberose (Polianthes tuberosa L.) dovuta alla Botrytis vulgaris Fr. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 297—299.)

—, L'avviazzimento o la malattia dei peperoni (Capsicum annuum, a Vaghera. (Riv. patol. Pavia 1907. 3 p.)

—, Una malattia delle Tuberose (Polianthes tuberosa L.) devuta alla Botrytis vulgaris Fr. (Atti d. Istit. bot. di Pavia. Ser. 2. Vol. XI. 1908. p. 297—299.)

Murrill, W. A., Leaf blight of the plane tree. (Journ. New York bot. gard. Vol. IX. 1908. p. 105—107. 1 Taf. u. Fig.)

Inhalt.

Originalreferate über bakteriologische und gärungsphysiologische etc. Institute, Laboratorien etc.

Krzemieniewski, Seweryn, Untersuchungen über Azotobacter chroococcum, p. 161.

Zusammenfassende Uebersichten.

von Faber, F. C., Die Krankheiten und Schädlinge des Kaffees. II., p. 193.

Stift, A., Ueber im Jahre 1908 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten und Mitteilungen auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten, p. 173.

Referate.

Atkinson, G. F., A parasitic Alga, Rhodochytrium spilanthidis Lagerheim in North America, p. 243.
Baer, W., Gracilaria simploniella F. R. und die Eichenrindenminen, p. 259.
Barber, Marshall A., On heredity in certain micro-organisms, p. 221.
Bataille, F., Notes sur quelques Russules, p. 243.
Bokorny, Th., Assimilation des Formaldehyds, p. 231.
Bredemann, Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien, p. 235.
Bremner, O. E., New Coccidae from California, p. 254.
Buchner, Eduard und **Duchaček, Franz**, Ueber fraktionierte Fällung des Hefepreßsaftes, p. 230.
Buß, Anton, Studien über Buttermilch, p. 239.
Carbone, D. und **Marincola-Cattaneo, R.**, Su l'influenza dell' ossigeno nella decomposizione dei vegetali, p. 239.
Cingolani, M., Ricerche intorno al processo della denitrificazione, p. 238.
Disqué, Heinrich, Versuch einer mikrolepidopterologischen Botanik, p. 258.
Ehrenberg, Beiträge zur Ammoniakfrage. I., p. 235.
Engler, A. und **Krause, K.**, Ueber die Lebensweise von Viscum minimum Harvey, p. 248.
Escherich, K., Neues vom Maikäfer, p. 258.
Falck, Richard, Neue Mitteilungen über die Trockenfäule, p. 250.
Fischer, Ed., Infektionsversuche mit Rostpilzen, p. 245.
Friderici, Die südamerikanische Wanderheuschrecke, p. 257.
Gorini, C., Ricerche sopra una grave malattia del formaggio Gorgonzola, p. 240.
de Grazia, S., Su la nitrificazione della calciocianamide in diversi tipi di terreno, p. 238.
de Grazia, S. e **Camiola, C.**, Su l'intervento dei microorganismi nella utilisazione della potassa leucitica, p. 238.
Green, E. E., Remarks on indian scale insects (Coccidae), p. 254.
—, White Ants, p. 255.
Grund, Massenhaftes Auftreten von Schmetterlingen im Jahre 1908, p. 259.
Guinier, Ph. et **Maire, R.**, Sur l'orientation des réceptacles des Ugulina, p. 252.
Hariot, P., Les Urédinées, p. 245.
Hayduck, F., Ueber Pilzgifte in Getreide, Würzen und Hefen und die Abhängigkeit ihrer Wirkung von Mineralsalzen, p. 242.
Herzog und **Meier**, Ueber Oxydation durch Schimmelpilze, p. 233.
Herzog und **Ripke**, Notiz über die Umwandlung von Zimmtsäure in Styrol durch Schimmelpilze, p. 241.
Hiltner, Bericht über Versuche auf bakteriologisch-landwirtschaftlichem Gebiete, p. 234.
Jeanmaire, M. J., De la nocivité relative et temporaire de l'Amanita junquillea, p. 243.
Jickeli, Carl F., Zellteilung, Encystierung und Befruchtung als periodische Ausscheidungen, p. 220.
Jordan, Edwin O., A textbook of general bacteriology, p. 220.
Kauffmann, A contribution to the physiology of the Saprolegnaceae, p. 244.
Kossowicz, Alexander, Bakteriologische Untersuchungen über das Weichwerden eingesäuerter Gurken, p. 241.
Krieg, W., Ueber die Ursachen der Spezialisation und die Entstehung des Wirtswechsels bei den Uredineen, p. 246.
Krueger, Ein Beitrag zur Untersuchung der Stickstoffumsetzungen im Boden, p. 236.
Kusano, S., Further studies on Aeginetia indica, p. 249.
—, On the parasitism of Siphonostagia (Rhinantheae), p. 249.
Küster, E., Keimung und Entwickelung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen, p. 240.
Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, p. 224.
Lanz, Die Schälbeschädigungen des Rotwildes, p. 261.
—, Dasselbe (Entgegnung und Ergänzung), p. 261.
Lenk, Fraß der kleinen Fichtenblattwespe (Nematus abietum Hrtg.) im Forstbezirke Linz, p. 254.
Lodes, Anton, Ein neuer Laubholzschädling (Barbitistes Oczkayi Charp.), p. 257.
Lüstner, Gustav, Beobachtungen über das Auftreten von Pflanzenläusen auf den Früchten der Kernobststämme, p. 253.
—, Ueber stärkere, in den Jahren 1906 und 1907 beobachtete Insektenschäden, p. 253.
—, Ueber ein stärkeres Auftreten der Raupen von Argyresthia conjugella Zll. in den Früchten des Apfelbaumes, p. 259.
Maire, René, Les suçoirs des Meliola et des Asterina, p. 253.
Marlatt, C. L., The periodical cicada (Tibicen septendecim L., race tredecim Walsh-Riley), p. 257.
Merker, G., Die Mistel auf der Fichte, p. 248.
Mücke, M., Zur Kenntnis der Eientwicke-

lung und Befruchtung von Achlya polyandra De By, p. 244.
Müller-Rutz, J., Beitrag zur Microlepidopteren-Fauna der Schweiz, p. 258.
Nüsslin, Zur Biologie der Chermes piceae Ratz, p. 255.
Peltereau, M., Etudes et observations sur les Russules, p. 243.
Probst, R., Infektionsversuche mit Kompositen bewohnenden Puccinien, p. 247.
Reed, H. S., The value of certain nutrition elements to the plant cell, p. 221.
Resenscheck, Friedrich, Einwirkung von kolloidalem Eisenhydroxyd auf den Hefepreßsaft, p. 231.
Rosenthaler, L., Durch Enzyme bewirkte asymmetrische Synthesen, p. 230.
Sabaschnikoff, Untersuchungen über Kalkstickstoff und Stickstoffkalk, p. 236.
Sanders, J. G., The terrapin scale (Eulecanium nigrofasciatum Pergande), p. 254.
Schander, Kartoffelkrankheiten, p. 252.
Schrammen, F. R., Ueber das Reizleben der Einzeller, p. 221.
Schroeter, J. †, Pilze, p. 229.
Stift, A., Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln, p. 252.
Sydow, H. et **P.,** Ueber eine Anzahl aus der Gattung Uromyces auszuschließender resp. unrichtig beschriebener Arten, p. 245.
Trump, Die Schälbeschädigungen des Rotwildes, p. 261.
Trump, N. N., Ziegenmeyer und **Schramm,** Bemerkungen zu diesen Aufsätzen, p. 261.
Tubeuf, K. v., Hexenbesen von Prunus Padus, p. 248.
Ugrenović, A., Waldinsektenschäden in Slawonien, p. 253.
Volkhart, Die Trockenfäule der Kartoffeln, p. 251.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Appel, Ueber die Bekämpfbarkeit des Weizen- und Gerstenflugbrandes, p. 264.
Beobachtungen bei der Verwendung von Karbolineummitteln, p. 278.
Betten, R., Neueste Versuche und Erfahrungen mit dem Karbolineum als sicherem Mittel gegen Blutlaus, Krebs und Brand, gegen Fusicladium und Ungeziefer aller Art, p. 265.
Fischer, J., Mittel zur Bekämpfung der Peronospora und des Oidiums der Rebe, p. 266.
Huber, Fusicladiumbekämpfung durch Kupferkalkbrühe oder Karbolineum, p. 265.
Istvánffy, G. de, La lutte contre le Botrytis cinerea, pourriture grise de la vigne, p. 264.
—, La lutte contre le rot livide (White-rot [Coniothyrium diplodiella]) de la vigne, p. 263.
Kelhofer, W., Ueber einige Gesichtspunkte bei der Herstellung der Bordeauxbrühe. p. 278.
Lüstner, G., Peronosporabekämpfungsversuche, p. 265.
—, Sinngemäße Niederhaltung der tierischen und pflanzlichen Krankheitserreger der Obstbäume und Gartengewächse, p. 266.
—, Versuche mit Karbolineumemulsionen. p. 278.
Matenaers, Das Besprenkeln der Kartoffeln als sicheres Schutzmittel gegen Krankheiten, p. 278.
Moritz, J., Beobachtungen und Versuche betreffend die Reblaus, Phylloxera vastatrix Pl., und deren Bekämpfung, p. 271.
Schellenberg, H., Versuche über die Bekämpfung der Peronospora, p. 265.
Schwartz, Martin, Ueber einige neue und alte Mittel zur Bekämpfung schädlicher Insekten, p. 268.
Sobotta, Wird der Wert des Stalldüngers durch die in unseren Viehställen verwendeten Desinfektionsmittel beeinflußt? p. 262.
Spieker, Versuche mit verschiedenen Spritzmitteln auf dem Obstgut Walthersberg, p. 278.
Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus und ähnlicher Schädlinge an Obstbäumen, p. 269.
Szigethi, Gy. A., A szölöfajták Phylloxera iránti ellenállósága szövettanilag. [Die Widerstandsfähigkeit der Rebenarten hinsichtlich der Gewebekonstruktion von deren Wurzeln], p. 270.
Wolff, M., Zur Kenntnis der natürlichen Feinde von Scolytus rugulosus Rtzb., p. 266.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Fuhrmann, F., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie, p. 279.
Friedberger, E., Versuche über die Verwendbarkeit der amerikanischen Schnellfiltration (Filter der Jewell Filter Company) für die Königsberger Wasserversorgung, p. 279.
Heinemann, P. G. and **Glenn, T. H.,** A comparison of practical methods for determining the bacterial content of milk, p. 281.
Löhnis, Die Beurteilung der Milch mit Hilfe der Gärproben, p. 281.

Neue Litteratur, p. 282.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.
Abgeschlossen am 20. April 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 10/13.

Nachdruck verboten.

Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre.

Von Dr. **Vladislav Růžička,** Privatdozent der allgemeinen Biologie in Prag.

Mit 8 Figuren im Text.

Die von Dobell[1]) und Guilliermond[2]) veröffentlichten Arbeiten sind bezüglich der Strukturen von sporenbildenden Bakterien zu Schlüssen gelangt, denen analoge ich bereits seit Jahren verteidige. Mit Hinblick auf diesen Umstand seien mir vor allem zu der Publikation Guilliermonds einige Worte gestattet. Guilliermond kommt zu dem Resultate, daß sich im Cytoplasma der Bakterien eine Anzahl von Granulis befindet, die sich wie Chromatin verhalten. Hierzu möchte ich mir zu bemerken erlauben, daß ich diesen Körnchen, die ich 1898[3]) als einer der ersten als allgemein vorkommendes Strukturbild beschrieben habe, 1903 eine ganze Arbeit ausschließlich gewidmet habe[4]), in welcher ich die morphologischen[5]) Verhältnisse derselben, deren Verhältnis zu netzigen und wabigen Strukturen der Bakterien (150 verschiedene Arten) und zur Bildung der Scheidewände ausführlich dargelegt und auf Taf. II abgebildet habe. Bilder, wie sie Guilliermond auf Taf. IV, Fig. 53—69 abbildet, gab ich bereits 1898, Taf. VII, Fig. 3—12.

In meiner sub 4 erwähnten Arbeit habe ich auch den neuerdings von Swellengrebel bei Spirillen wiederbeobachteten, wohl zum ersten Male von Bütschli[6]) gesehenen Spiralfaden abgebildet (Taf. II, Fig. 20, 21). Ich habe jedoch nie daran gezweifelt, daß diese spiralige Struktur keinen spezifischen Charakter zur Schau trägt, sondern dieselbe nur als Ausdruck der Wandlungsfähigkeit protoplasmatischer Strukturen[7]) aufgefaßt. Dazu war ich aus folgenden Gründen berechtigt: Erstens habe ich neben der spiraligen Struktur an denselben Objekten auch andere, z. B. wabige, konstatieren können (z. B. bei Spirillen, Taf. II, Fig. 18, 20, 21); sodann habe ich sie auch bei verschiedenen Stäbchenbakterien festzustellen vermocht (Taf. II, Fig. 2, Bac. anthracis, Fig. 19 Bac. megatherium).

Zu der von mir als allgemeine Erscheinung konstatierten Wandlungsfähigkeit der Bakterienstruktur bringt auch Guilliermonds Arbeit weitere Beiträge. Er findet seine Objekte erst homogen, sodann mit alveolärer Struktur versehen. Auch das homogene Stadium habe ich im Arch. f. Hygiene. Bd. XLVII. 1903. p. 357 beschrieben.

Im II. Kapitel derselben Arbeit habe ich das Verhältnis gewisser

---

1) Note on some parasitic Protists. (Quart. Journ. of micr. Sc. Vol. LII. 1908.)

2) Arch. f. Protistenk. XII. 1908. Heft 1.

3) Zur Frage der inneren Struktur der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898.)

4) Ueber die biologische Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhaltes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLVII. 1903.)

5) Die mikrochemischen habe ich im Arch. f. Hygiene. 1904, im Arch. f. Entwickelungsmech. Bd. XXI. 1906 und im Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907 dargestellt.

6) Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanoph. u. Bakt. Leipzig 1896. Fig. 17 auf Taf. III.

7) Siehe hierüber meine Schrift: Struktur u. Plasma. Wiesbaden (Bergmann) 1907.

Granula des Bakterienkörpers zur Scheidewandbildung auf Grund von Beobachtungen an lebenden Objekten festgestellt, indem ich gezeigt habe, daß die Scheidewand, in welcher sich die Teilung der Kokken vollzieht, aus einem Granulum entsteht. (Die zugehörigen Bilder auf Taf. III, Fig. 30.)

Auf diese, leider völlig unbeachtet gebliebene Beobachtung ist auch eine Reihe der von Guilliermond publizierten Bilder zurückzuführen. Es sind dies die Fig. 1—14 auf Taf. II und Fig. 77—85 auf Taf. III. Ganz analoge und auch auf Stäbchenbakterien bezügliche Bilder habe ich in meiner Arbeit aus dem Jahre 1903, Taf. II, Fig. 4c, 19a, b, abgebildet; die richtige Deutung im obigen Sinne gab ich l. c. 1903, p. 369, und 1904, p. 291[1]).

Weiterhin möchte ich noch hervorheben, daß eine Anzahl der von Guilliermond als Sporen gedeuteten Gebilde keine solchen sind. So z. B. sicher die große Kugel in Fig. 44, Taf. III, weiterhin die Fig. 54, 66—73, Taf. IV, die ganz gewiß keine Sporen, sondern sporoide Körper darstellen[2]). Wirkliche Sporen besitzen niemals Dimensionen, die über das Diameter des vegetativen Stäbchens hinausreichen würden; dies ist nur bei den sporoiden Körpern der Fall.

Bezüglich der Sporenanlage äußert sich Guilliermond dahin, daß sie sich als ein großes Granulum repräsentiert, das wahrscheinlich durch Kondensation eines Teiles der charakteristischen Granula des Bakterienleibes entstanden ist und einem Kern ähnlich sieht. Er sagt weiterhin: „La spore pourrait être considerée comme formée en majeur partie par de la chromatine“[3]).

Auch nach Dobell (l. c.) entsteht bei Spirillum monospora die Spore gleichfalls durch Verdichtung des Chromatins.

Die obige Auffassung der Sporenanlage, welche weniger auf den morphologischen Charakter als auf die Zusammensetzung aus bestimmten Substanzen Nachdruck legt, habe ich wohl als erster 1907 ausführlich begründet[4]).

Mit Hinblick auf das bislang Angeführte seien mir die nachstehenden Bemerkungen gestattet.

Ich bearbeite nun seit dem Jahre 1898 bezw. 1903 das vorliegende Fragengebiet, habe während dieser Zeit fast jedes Jahr eine einschlägige Publikation erscheinen lassen; diese Publikationen sind im Centralblatt für Bakteriologie, Archiv für Hygiene, Archiv für Entwickelungsmechanik, Archiv für Protistenkunde, Archiv für Zellforschung enthalten. Bei dieser Sachlage dürfte es ziemlich erstaunlich erscheinen, daß auf diesem Gebiete noch eine Arbeit erscheinen kann, deren Verfasser jene meine, in den genannten Archiven, die ein Gemeingut der wissenschaftlichen Welt sind, erschienenen Publikationen unbekannt geblieben sind. Dies ist, wie ich leider konstatieren muß, bei H. Guilliermond der Fall[5]). Trotzdem begrüße ich diese Arbeit, da ja Guilliermond bezüglich der von ihm eruierten Tatsachen im großen und ganzen zu denselben Resultaten gelangt, die ich — wie oben nachgewiesen wurde — schon früher, und zwar unter anderem auch mit Bezug auf dieselben Objekte (Bact. radicosum, Bac. mycoides)[1]) mitgeteilt habe. Es freut mich, daß auch Guilliermond zu dem Schlusse gelangt, daß die von ihm beobachteten Bakterien weder einen echten Kern, noch einen Zentralkörper, noch einen Spiralkernfaden enthalten, da ich ja denselben Standpunkt schon seit einer Reihe von Jahren, bis jetzt nahezu allein, verteidigt habe.

---

[1]) Weitere Untersuchungen über den Bau und die allgemein biologische Natur der Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. LI. 1904.)

[2]) Siehe darüber meine Arbeit: Depressionszustände und Regulationsvorgänge bei dem Bact. anthracis (Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907.)

[3]) p. 38. Das soll sich jedenfalls auf die Sporenanlage, nicht auf die Spore selbst beziehen.

[4]) Arch. f. Protistenk. Bd. X. p. 256—258.

[5]) Es gilt dies nicht nur für diese, sondern auch für die früheren Publikationen dieses Autors. Dasselbe muß ich auch von Amato (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLVIII. 1908) konstatieren.

Es handelt sich somit nunmehr darum, wie bei dieser Sachlage die Struktur der Bakterien aufgefaßt und gedeutet werden soll. Wegen der prinzipiellen Schlußfolgerungen, die sich hieraus für die allgemeine Auffassung der Bakterien ergeben, halte ich die Lösung der gestellten Frage für wichtig. Die Meinung Guilliermonds geht dahin, daß — da man den Kern nur morphologisch definieren könne und eine spezifische Chromatinfärbung unbekannt ist — man nicht genug vorsichtig sein kann in der Vergleichung der Bakteriengranula mit Chromatinkörnern. Ob die im Bakterienkörper zerstreuten Chromatinkörner einen diffusen Kern oder ein Chromidialsystem darstellen, könne heute definitiv nicht entschieden werden und sei einfach nur eine Hypothese.

Da die Begriffe „diffuser Kern“ und „Chromidialsystem“ im wesentlichen auf eins herauslaufen, werde ich mich im Nachstehenden ausschließlich mit der Chromidialtheorie befassen.

Als Basis wählte ich diesmal die Beschreibung des Bac. nitri n. sp., der durch seine Größe ausgezeichnet ist. Ich werde mich indes ganz kurz fassen, da ja die beigefügten Abbildungen für sich sprechen und eine genaue Darlegung des Entwickelungszyklus dieses Bakteriums von seiten des Herrn A. Ambrož erfolgen wird.

Im Beginne der Entwickelung färbt sich der ganze Bakterienleib schwach diffus; seine Teilung erfolgt durch Zwischenwände, die aus membranwandständigen Chromatinkörnern sich ausbilden (Fig. 1). Einige Zeit nach abgelaufener Teilung kann man noch die Reste der Scheidewand in Form einer Verdickung der Polarmembranwand oder von Körnern, die gewöhnlich an den entgegengesetzten Ecken der anliegenden Enden der beiden Teilstücke liegen, beobachten (Fig. 1, 2). Mit dem Altern tritt in der ursprünglich diffusen Körpersubstanz stets mehr und mehr Plastingrundsubstanz auf; die Chromatinsubstanz bildet anfangs ein Netz mit kleinen Maschen (Fig. 3), später Chromatinkörner, die in ein achromatisches (Linin-)Netzwerk eingelagert sind (Fig. 5). Um diese Zeit herum treten manchmal auch spiralige Strukturen in Sicht; doch handelt es sich um keine Chromatinspirale, sondern um ein einfaches Lininnetz, dessen Chromatinkörner an den Schnittpunkten der Lininfäden an der Wand des Individuums zu liegen kommen (Fig. 4).

Die Sporenbildung geht in doppelter Weise vor sich. In einer Anzahl von Individuen schwindet das Chromatin des Netzwerkes, in dem keine differenzierten Körner zu erblicken sind, im größten Teile des Körpers, und häuft sich in Form eines im Beginne kleinen, punktförmigen, schwach diffus tingiblen Fleckens ohne bestimmte Begrenzung, später in Form eines stets größeren, bestimmter konturierten und stärker färbbaren Körpers an einem Pole des Bakteriums an, bis schließlich die scharf begrenzte Sporenanlage fertig vor unseren Blicken liegt (Fig. 6 A, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*). In einer anderen Anzahl von Individuen sieht man dagegen

---

1) Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. 1903. Bact. radicosum, p. 345. 348. 349. 370. Taf. II. Fig. 7, — Bac. mycoides, p. 348. Taf. II. Fig. 4.

gleich vom Beginne an ein mit Chromatinkörnern versehenes Netzwerk; dasselbe grenzt sich an einem Pole des Individuums etwas schärfer von dem Netzwerk des übrigen Körpers ab und die abgegrenzten Chromatinkörner fließen zur färbbaren Sporenanlage zusammen (Fig. 6 B, *f, g, h, l, m*), oder es kommt zum Zusammenflusse der Chromatinkörner auch ohne irgendwelche Abgrenzung der Sporenanlage (Fig. 6 B, *f, i, k, l, m*).

Im weiteren Verlaufe der Entwickelung wandelt sich die färbbare Anlage in die Plastinspore um, indem das Chromatin der ersteren schwindet (Fig. 6 *n, o, p*); in einem bestimmten Stadium sieht man in der Spore nur mehr ein einziges Chromatinkörnchen, das jedoch schließlich auch dem Schwunde anheimfällt.

Auf bestimmten Nährböden tritt statt der Sporulation die Bildung sporoider Körper[1]), ganz nach dem von mir bei dem B. anthracis beschriebenen Typus, ein.

Es fragt sich nun: Lassen sich die beschriebenen Strukturen mit der Chromidialtheorie in Einklang bringen? Um dies zu erfahren, wollen wir uns vor allem klar darüber werden, was unter Chromidien zu verstehen ist. Denn daran muß unbedingt festgehalten werden, daß man von bestimmten Definitionen ausgehen muß, wenn man Vergleiche anstellen will. Wenn es nun auch selbstverständlich ist, daß durch die stetige Erweiterung unserer Kenntnisse die Definitionen der Naturobjekte abgeändert und modifiziert, ja sogar abgeschafft werden, so darf man doch in diesem Bestreben nach Modifikationen unserer Begriffe nicht so weit gehen, daß man die Ausgangsbegriffe völlig verwässert; sondern es müssen eben für die von dem ursprünglichen Begriffe weitabliegenden Erscheinungen neue Definitionen, neue Begriffe geschaffen werden. In klarer Weise hat sich diese Notwendigkeit bei der Feststellung des gegenseitigen Verhältnisses der Begriffe: Kern, Chromidium, Bakterienstruktur, ergeben.

Nach der Darstellung R. Hertwigs werden als Chromidien diejenigen Chromatinstrukturen bezeichnet, welche außerhalb des Zellkernes im Cytoplasma liegen; ihr Ursprung ist im Kerne zu suchen, manchmal zerfällt der ganze Kern in diese Gebilde und kann auch aus demselben wieder hervorgehen. Sie bestehen aus Chromatin und Plastin. Auf Grund gewisser Beobachtungen, deren Darlegung hier unmöglich ist 1), werden die Chromidien in vegetative, d. h. solche, die während der Lebensprozesse aufgebraucht oder neugebildet werden, und propagative, welche an den Geschlechtsvorgängen teilnehmen und daher von Zelle zu Zelle weiterbefördert werden, unterschieden.

---

[1]) Neuerdings hat Eisenberg (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 3) eine Umdeutung dieser von mir auf Grund, wie E. schreibt, „exakter“ morphologischer Durchforschung, als Plastingebilde erkannten Gebilde versucht, indem er sie als Fetteinschlüsse erklärt und benennt. Die Deutung von E. ist jedoch unrichtig, und zwar aus folgenden Gründen. Sie basiert 1) vor allem auf Resultaten histologischer Färbungen, die in einer chemischen Frage keine Beweiskraft besitzen; 2) übersieht E., daß ich (Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907) durch besondere Versuche den Fettcharakter der sporoiden Körper, den ich in Frage zog, ausgeschlossen habe; 3) verwandelt sich die gesamte Kultur in diese Körper; wenn sie Fett wären, so müßte man nach dem Verbleibe des gesamten Stickstoffes der Bakterien fragen. Uebrigens wäre es ein Unikum in Physiologie und Pathologie, daß sich ein lebender Körper auf Grund eigener Stoffwechselvorgänge gänzlich in Fettkugeln verwandeln würde; 4) kann durch Behandlung der Sporoidkörper mit heißem Kalialkohol, wobei sie erhalten bleiben, der Fettcharakter derselben direkt völlig ausgeschlossen werden; 5) hat E. als Quelle des Fettes die Kohlehydrate des Nährbodens bezeichnet (Glyzerin, Traubenzucker); doch hat Zettnow (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1896) die Bildung der Sporoidkörper bei Spirillum undula maj. in Wasser mit Peptonzusatz beschrieben und vorzüglich abgebildet, also in einem Nährboden, der keine Kohlehydrate enthielt.

Ich will jedoch nicht bestreiten, daß die sporoiden Körper außer dem Plastin auch noch eine gewisse Menge von Fettsubstanzen und vielleicht auch Glykogen enthalten. Da dies, wie ich im Arch. f. Zellforsch. Bd. I. p. 602 gezeigt habe, mit der Natur des Plastins im Einklange ist, meine Auffassung der Sporoidkörper außerdem die Erklärung wichtiger Lebensvorgänge ermöglicht, so ist auch die von mir gewählte Bezeichnung (Sporoidkörper = aus ähnlicher Substanz wie die Sporen zusammengesetzte Körper) als völlig entsprechend, beizubehalten.

Den Gedanken, daß die Bakterienstruktur einem Chromidialnetze entsprechen könnte, hat 1902 R. Hertwig ohne eigene Untersuchungen, nur vermutungsweise, ausgesprochen. Es ist nun für die Kontroverse über die Natur der Bakterien gewiß sehr bezeichnend, wenn auch freilich leicht begreiflich, daß diese Ansicht vielfachen Anklang fand; bot sie ja doch scheinbar den Ariadnefaden zur Entwirrung dieses Problems auf einer Grundlage, die der Zelltheorie nicht zu schroff entgegenstand. Es ist jedoch hervorzuheben, daß man die Ansicht R. Hertwigs vielfach völlig kritiklos hinnahm und eine bloße Vermutung als Tatsache hinstellte, was doch a priori unzulässig ist. Oder aber hat man die Chromidialtheorie auf die Strukturen der Bakterien in einer Weise angewendet, welche dem eigentlichen Sinne derselben zuwiderläuft. Ich werde dies sofort an einem Beispiele demonstrieren.

Stellen wir uns für einen Augenblick auf den Standpunkt, daß die Struktur des Bac. anthracis oder des Bac. nitri, also zweier sporenbildender Bakterien, einem Chromidialnetz entspricht. Verfolgen wir nun die Umwandlungen dieses Chromidialnetzes bei der Sporenbildung! Ich habe sie bei Bac. anthracis beschrieben 2); nach den Untersuchungen Ambrož' geht sie bei Bac. nitri in analoger Weise von statten. Die Spore bildet sich in der Weise, daß sich das Chromidialnetz verdichtet und die färbbaren Körner desselben zu einem diffus gefärbten großen Korne zusammenschmelzen, wodurch die färbbare Sporenanlage, analog wie bei anderen Protozoen die sekundären Kerne, entsteht. In ähnlicher Weise haben Guilliermond und Dobell die Bildung der Sporenanlage geschildert. Schaudinn, der diesen Vorgang bei Bac. Bütschlii sah, hat sich über denselben folgendermaßen geäußert: „Ich habe die Vorstellung, daß die Kernsubstanzen, welche schon bei höheren Mikroorganismen (vielleicht auch bei anderen Bakterien im Zentralkörper Bütschlis) in einem morphologisch differenzierten Gebilde, dem Zellkern, eine bestimmte Gruppierung und Organisation angenommen haben, bei unserem Bacillus (scil. Bütschlii), während des größten Teiles seines Lebens diffus durch das ganze Protoplasma verteilt sind 3); nur bei der Sporenbildung kommt es zur Ausbildung eines den echten Zellkernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebildes."

Bereits der Umstand, daß Schaudinn in der Sporenanlage nur ein dem Zellkerne vergleichbares Gebilde, nicht einen wirklichen Kern erblickt, könnte allein zur Vorsicht bei der Identifizierung der Bakterienstruktur mit einem Chromidialnetz mahnen. Denn in dem Falle, daß die Struktur des Bakterienleibes einem Chromidialnetz ent-

---

1) Vergl. hierüber Goldschmidt, Die Chromidien der Protozoen (Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1905). — Schaudinn, Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen (Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. XV. 1905); — Růžička, Struktur und Plasma. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1907.

2) Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907. p. 253—263.

3) Dieser Ausspruch wurde gleichzeitig mit meiner analogen Ansicht publiziert. Schaudinn, Arch. f. Protistenk. Bd. I. 1902. — Růžička, Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. 1903 (in den Abhandl. d. böhm. Akademie d. Wiss. Bd. XI. No. 36. aber 1902!).

spräche, müßte die Sporenanlage einen echten Kern vorstellen, da sie ebenso, wie die sekundären Kerne anderer Protozoen, durch Verdichtung des Netzes entsteht.

Nun hat aber Schaudinn sicherlich das Richtige getroffen, als er die Sporenanlage nur als ein dem Zellkern vergleichbares Gebilde ansprach. Dies ergibt sich aus der weiteren Entwickelungsgeschichte derselben. Trotzdem nämlich nicht nur die tinktoriellen, sondern auch, wie ich gezeigt habe[1], die chemischen Merkmale der Sporenanlage den Kernsubstanzen entsprechen, so ist es doch nur das eine Stadium ihrer Entwickelung, das färbbare nämlich, das man mit einem Kerne vergleichen könnte. Später, bei der Reifung der Spore, verschwindet nämlich das Chromatin derselben, und in einem bestimmten Augenblicke enthält sie nur ein einziges Chromatinkörnchen, das man früher als den Sporenkern ansah (Fig. 6*o*). Schließlich fällt auch dieses dem Schwunde anheim; die reife Spore enthält kein Chromatin.

Es fragt sich nun, wie ist das eben erwähnte Entwickelungsstadium der Spore, in welchem nur ein Chromatinkern zugegen ist, vom Standpunkte der Chromidialtheorie aufzufassen? Ist es möglich, das vor dem völligen Schwunde des Chromatins in der Spore restierende oder das bei der Keimung in ihr neu auftretende Chromatinkorn als ein Chromidium zu bezeichnen?

Erinnern wir uns daran, daß im Sinne der Ausführungen Goldschmidts außerhalb des Kernes befindliche Chromatinstrukturen, die im Laufe der Lebensvorgänge aufgebraucht oder neugebildet werden, als vegetative Chromidien anzusehen sind.

Nun kann aber nicht bestritten werden, daß sich das Chromatin der reifenden und keimenden Spore einem vegetativen Chromidium völlig analog verhält. Es schwindet spurlos, sobald die Spore reif ist, d. h. einen minimalen Stoffwechsel besitzt, und erscheint wieder bei der Keimung der Spore, sobald also der Stoffwechsel derselben rege wird, um sich dann wieder zu der Chromatinstruktur des erwachsenen Bakteriums zu vermehren und umzuwandeln. Mit Bezug auf dieses Verhalten könnte also das Chromatinkorn der reifenden und keimenden Spore mit vollem Recht als ein Chromidium, und zwar als ein vegetatives Chromidium, bezeichnet werden.

Dagegen bleibt jedoch das Nachfolgende zu erwägen. Wie bereits erwähnt, müßte mit Hinblick auf die Bildung der Spore aus dem Chromidialnetz des Bakterienkörpers die Sporenanlage als einem sekundären Kern entsprechend aufgefaßt werden. Da jedoch die Umwandlungen des Chromatins während der Reifung oder der Keimung der Spore, welche zur Bildung eines Chromidium-ähnlichen Gebildes führen, niemals außerhalb des Gebildes, das im Sinne der Chromidialtheorie in einem bestimmten Stadium als ein Kern anzusprechen ist, **sondern stets nur innerhalb dieses Gebildes** vor sich gehen, so würde sich bei Anwendung der Chromidiallehre auf jenen Vorgang ergeben, daß ein Chromidium in einem Kern enthalten ist, was jedoch dem eigentlichen Begriffe des Chromidiums im Sinne der Hertwigschen Schule schier zuwiderlaufen, ja diesen Begriff desavouieren würde.

Aus dem Angeführten ergibt sich, daß diejenige Auffassung, die in der Bakterienkultur ein Chromidialnetz erblickt, bei den sporenbildenden Bakterien unmöglich zutreffen kann.

---

[1] Arch. f. Entwickelungsmech. Bd. XXI. 1906. p. 345 ff. — Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907. p. 250 ff.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ziehen wir aber Bakterienarten in Betracht, die keine Sporen bilden, z. B. Coccaceaen oder diejenigen Stäbchenformen, die sich diesen analog verhalten (z. B. B. typhi), so finden wir hier überhaupt keine Gelegenheit, um die Analogie der vorhandenen Chromatinstrukturen mit Chromidien behaupten zu können, da eben ein der Umwandlung in Kerne ähnlicher Vorgang, auf welchen eine solche Behauptung basiert werden könnte, wegen Wegfall der Sporenbildung überhaupt nicht vorkommt. Besonders überzeugend sind in dieser Beziehung die Strukturen der Coccaceaen, in welchen, soweit bekannt, eben nur so viel Chromatinkörnchen zur Ausbildung gelangen, als Scheidewände gebildet werden sollen im Sinne des von mir [1]) beschriebenen Vorganges. In asporogenen Bakterien sind die Verhältnisse insofern komplizierter, als auch außer den zur Scheidewandbildung verwendeten Körnchen noch Chromatinstrukturen zur Ausbildung gelangen. Immerhin steht fest, daß auch in diesem Falle die Chromatinstruktur außer jedem Zusammenhang mit einem Kerne oder einem dem Kerne analogen Gebilde steht, ein Umstand, welcher dem Begriffe eines wirklichen Chromidiums nicht entspricht. Denn dieser verlangt, wie bereits oben bemerkt wurde, entweder den Ursprung des Chromidiums aus einem Kern, oder aber umgekehrt die Umwandlung desselben in einen Kern. Es ist auch, soviel mir bekannt, bislang kein unzweifelhaftes, d. h. neben einem Kerne im Cytoplasma befindliches Chromidium bekannt, das dieser Forderung nicht entsprechen würde.

Würde man aber den Begriff des Chromidiums auch auf Chromatinstrukturen ausdehnen wollen, welche überhaupt außerhalb jenes Zusammenhanges (Primärkern — Chromidium — Sekundärkern) im Cytoplasma befindlich sind, dann müßte man logischerweise auch Kerne von Zellen, die kein Chromidium besitzen, als Chromidialstruktur auffassen. Kurz, diese Auffassung würde zu einer Begriffsverwirrung Anlaß geben.

Außerdem ist ja z. B. völlig klar, daß — wenn der sporogene B. anthracis zum erbmäßig und dauernd asporogenen wird — den Charakter seiner Chromatinstruktur gar kein Wandel trifft. Kann dieselbe, wie oben nachgewiesen wurde, bereits im sporogenen Bacillus kein Chromidialnetz sein, so kann sie es auch in dem seiner Fähigkeit der Sporenbildung entblößten Bacillus nicht sein.

Kurz, will man den Begriffen Rechnung tragen, die berechtigt sind und feststehen, so muß man Kerne von Chromidien und Chromidien von der Bakterienstruktur unterscheiden.

Ich muß daher vollkommen Goldschmidt beipflichten, wenn er bei Besprechung der Chromidialtheorie der Bakterien den Ausspruch tut: „Man wird überhaupt wohl gut tun, die Bakterien vorderhand aus dem Spiel zu lassen [2]).“

Wenn mithin bei solcher Sachlage die Chromidiallehre zur Basis einer phylogenetischen Entwickelungstheorie des Geschlechtsprozesses in dem Sinne gemacht wird, wie dies von seiten Swarczewskys [3]) geschehen ist, so muß ein solches Vorgehen, sofern man die Bakterien hineinzubeziehen versucht, entschieden abgelehnt werden. Denn nicht nur, daß die Chromidialtheorie der Bakterienstruktur, wie oben gezeigt wurde, in höchstem Maße fraglich ist, sondern auch der Vorgang einer Autogamie ist offenbar nur auf eine sehr kleine Gruppe

---

1) Archiv für Hygiene. Bd. XLVII. 1903. p. 365—370.

2) Archiv für Protistenkunde. Bd. V. 1905. p. 137.

3) Ueber die Fortpflanzungsersch. bei Arcella vulgaris. (Arch. f. Protist. Bd. XII. 1908. 3.)

von Bakterien beschränkt. Bislang ist ja derselbe nur bei dem B. Bütschlii und sporonema von Schaudinn und bei B. flexilis von Dobell[1]) konstatiert worden, die überhaupt schon allein wegen der Tatsache ihrer Doppelsporigkeit nur äußerst wenige Analogieen im ganzen Bakterienreiche finden. Auf einen isolierten und einen zweifelhaften Fall hin eine Theorie von solcher Bedeutung, wie sie eine Phylogenese des Geschlechtsprozesses besitzen würde, aufzubauen, erscheint gewagt, zudem andere Deutungen möglich sind.

Außerdem ist mir der Grund nicht ersichtlich, welcher Swarczewsky bewogen hat, die Bakterienstruktur zu den Chromidien zu rechnen, da er ja selbst (Tabelle p. 208) zugibt, daß bei den Bakterien Primärkerne fehlen; wie also den Ursprung des Chromidialnetzes erklären? Daß aber der Schaudinnsche Vergleich der Sporenanlage mit einem Sekundärkern eben nur ein Vergleich ist und nicht mehr, dürfte aus dem oben Angeführten mit genügender Klarheit zu entnehmen sein[2]).

Wenn also Swarczewsky (p. 209) den Schluß zieht, daß es das Chromidium ist, in welchem die chromatische Substanz im Plasma in primitivster Form auftritt, so wird dieser Satz mit Hinblick auf die Bakterien einer Korrektur bedürfen. Denn die primitivste Form, in welcher die chromatische Substanz im Plasma dieser Organismen auftritt, ist eben das Chromatinkorn, das in der keimenden Spore in Erscheinung tritt. Wie aber oben dargetan wurde, so kann dieses Korn nicht als ein Chromidium angesehen werden. Dasselbe gilt von dem Chromatinkorn der Coccaceen, das zur Scheidewandbildung verwendet wird.

Es ist also kein Chromidium im strikten Sinne der Hertwigschen Schule, das die primitivste Form der chromatischen Substanz darstellt, sondern die letztere unterscheidet sich von einem Chromidium durch ihre Entstehungsweise (siehe weiter unten).

Eine andere Deutung der Bakterienstruktur basiert auf der Idee, daß im Bakterienleibe die Kernsubstanz vom Cytoplasma noch nicht differenziert ist. Prägnant ausgedrückt finden wir diesen Gedanken bei Gotschlich, der früher[3]) den Standpunkt einnahm, daß die Zellennatur der Bakterien bewiesen sei. Er schreibt nämlich[4]): „Die neueren Arbeiten über die Kernverhältnisse der Bakterien bestätigen im wesentlichen die von uns gegebene Darstellung, nach welcher bei den Bakterien die Kernsubstanz vom Plasma nur erst chemisch, noch nicht aber (wenigstens in der Mehrzahl der Fälle) morphologisch in Form eines distinkten Kernes differenziert ist, sondern meist mit dem „Entoplasma“ innig vermischt den durch die gewöhnlichen Färbungsmethoden darstellbaren Bakterienleib bildet, während das „Ektoplasma“ erst nach besonderer Vorbehandlung (Beizung) sichtbar wird.“

---

[1]) Nach dem Referate Guilliermonds (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XLII. 1908. p. 479) bilden sich hier die Sporen ohne ein färbbares, also einem Kern vergleichbares Entwickelungsstadium, so daß dieser Fall im Sinne der Ausführungen Swarczewkys (siehe die Tabelle auf p. 208 seiner Arbeit) überhaupt nicht verwertbar ist und seine Theorie eigentlich auf den einzigen Fall des B. Bütschlii basiert erscheint.

[2]) Auch Swellengrebel (Centralbl. f. Bakt. Abt II. Bd. XVI. 1906) hat die Tatsache, daß sich die Chromatinstruktur des B. maximus bucc. nicht zu einem Kern kondensiert, als Hindernis für eine Homologisierung derselben mit einer Chromidialstruktur angesehen.

[3]) Allgemeine Morphologie und Biologie der pathologischen Mikroorganismen. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Jena 1903. Bd. I. p. 44.)

[4]) Nachtrag zur allgemeinen Morphologie und Biologie der Bakterien. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Jena 1907. p. 4 ff.)

Wenn man von der übrigens jedenfalls sehr zweifelhaften Unterscheidung eines nur durch Beizung darstellbaren Ektoplasmas, durch welches sich die Bakterien erst recht von echten Zellen unterscheiden würden, absieht, so hat sich in ähnlicher Weise schon Schaudinn[1]) ausgesprochen: „Solange keine morphologische Sonderung des Kernes und Protoplasmas möglich ist, scheint es mir überflüssig, darüber zu streiten, ob die Bakterienzelle einen plasmalosen Zellkern oder ein kernloses Protoplasma darstellt, da für mich Kernsubstanz und Protoplasma unzertrennliche Gebilde sind.“ Daß dieser Ausspruch Schaudinns einen Teil der Wahrheit enthält, ist ja nicht zu bestreiten, aber dieser wahre Kern liegt nicht auf dem rein morphologischen, sondern auf dem morphochemischen Gebiete. Ich komme später noch darauf zurück.

Die Idee, welche wir in Gotschlichs oben zitiertem Ausspruche verteidigt finden, stammt eigentlich von Weigert[2]) und Mitrofanow[3]), hat aber keinen nennenswerten Anklang gefunden.

Meiner Ansicht nach ist dieser Gedanke mißverstanden worden. Ich will es versuchen, denselben zu analysieren.

Die Frage nach der zytologischen Beschaffenheit der Bakterien ist vor allem morphologischen Charakters. Wollten wir versuchen, den Gedanken, daß im Bakterienkörper das Kern- und Cytoplasma „innig“ vermischt oder „unzertrennliche“ Gebilde sind, morphologisch zu fassen, so ergäbe sich vor allem, daß das, was „innig vermischt“ oder „unzertrennlich“ ist, sich unmöglich voneinander differenzieren kann. Es bliebe somit die Vorstellung eines von der Kernsubstanz diffus durchtränkten Cytoplasmas übrig. Das ist aber eine Vorstellung, die sich morphologisch überhaupt nicht fassen läßt und auch den Tatsachen keineswegs entsprechen würde, da ja im erwachsenen Bakterienleibe die Chromatinsubstanz doch in einem morphologisch differenzierten Zustande enthalten ist.

Wenn man aber die Weigertsche Hypothese von der innigen Durchmischung der Cytoplasma- und Kernsubstanz bei den Bakterien durch eine Analogisierung der Bakterienstruktur mit dem Chromidialnetze der Protozoen stützen wollte, wie dies Gotschlich[4]) versucht hat, so erschiene mir dies in Anbetracht der letzterwähnten Tatsache, sowie der oben geäußerten Bedenken nicht zulässig. Man müßte nach einem anderen Wege suchen, um zu eruieren, ob eine Anwendung der Weigertschen Idee auf die Bakterien möglich ist.

Ich habe schon darauf hingewiesen, daß der Inhalt dieser Idee morphologisch nicht ausgedrückt werden kann. Versucht man ihn aber chemisch zu fixieren, so gelangt man zu der von mir aufgestellten Theorie des morphologischen Metabolismus der lebenden Substanz[5]), wodurch man zugleich auch seiner morphologischen Seite gerecht wird.

Nimmt man nämlich, wie es jene Theorie verlangt, an, daß das Chromatin und Plastin aus Stoffwechselvorgängen resultierende gegenseitige Umwandlungsformen der lebenden Substanz sind, so wird dadurch der Weigertschen Hypothese eine tatsächliche, wenn auch prinzipiell andere als die ursprünglich gedachte Basis geboten, zugleich aber der Vorgang, von welchem oben die Rede war, nämlich der Schwund des Chromatins in der reifenden Spore wohl als ein assimilatorischer, die Neubildung des Chromatins in der keimenden Spore aber wahrscheinlich als dissimilatorischer Stoffwechselvorgang dem Verständnisse sowohl vom chemischen, als vom morphologischen Standpunkte näher gerückt. In diesem meinen Sinne sind Kernsubstanz, d. h Chromatin und Protoplasma, d. h. Plastin wirklich unzertrennliche Gebilde. Sie sind es aber, meiner Erfahrung nach, nicht nur bei den Bakterien, sondern auch bei wirklichen Zellen und deren Bestandteilen, unter welch letzteren es sehr wenige geben dürfte, die nicht zugleich aus Plastin und Chromatin bestehen und bei welchen sich diese Substanzen je nach der Entwickelungs- oder Lebensphase nicht in direkten gegenseitigen genetischen Beziehungen befinden würden. Das gilt vom Centrosom, vom Kern, vom Nucleolus, vom Verhältnisse des Kerns zum Cytoplasma und auch von den Chromidien. Was für die ebengenannten Differenzierungen charakteristisch ist, ist also nicht ihre jeweilige Zusammensetzung aus den Chromatin-Plastinsubstanzen, sondern ihre morphologischen Verhältnisse, zu welchen auch die Art ihrer Entstehung gehört. Das gilt ganz entschieden auch von der Bakterienstruktur.

---

[1]) Archiv für Protistenkunde. Bd. II. 1903.

[2]) Schmidts Jahrb. 1887.

[3]) Biologisches Centralblatt. Bd. IX. 1889.

[4]) l. c. 1907. p. 5.

[5]) Struktur und Plasma. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1907. — Archiv f. Entwickelungsmechanik. Bd. XXI. 1906. — Archiv f. Zellforschung. Bd. I. 1908.

Auch derjenige, der an der Chromidialtheorie der Bakterienstruktur festhält, muß zugeben, daß durch meine[1]) und Swellengrebels[2]) Untersuchungen die Zusammensetzung der Bakterien aus Chromatin- und Plastingebilden bewiesen worden ist. Da nun, was die morphologischen Momente betrifft, die Chromidialtheorie die Umwandlungen der Bakterienstruktur, wie oben dargetan wurde, nicht zu erklären vermag, so bleibt uns noch bloß ein Objekt, in dessen morphologischem Sinne die Struktur des Bakterienleibes gedeutet werden könnte und das auch in seinen Umwandlungen direkt anwendbar wäre; es ist das Objekt, mit dem ich die Bakterien schon seit 1903 verglichen habe: der Zellkern.

Auch der Zellkern besteht aus Plastin und Chromatin; das Chromatin ist im Plastin in Form von Körnern vorhanden, die in Netzform angeordnet sein können; die gegenseitigen Umwandlungen der Chromatin- und Plastinsubstanzen des Kernes weisen einen prinzipiell analogen Charakter auf, wie diejenigen der Spore[3]). Ich kann daher bezüglich der morphologischen Zusammensetzung absolut keinen prinzipiellen Unterschied zwischen Kern und Bakterie aufdecken; zwischen Bakterie und Zelle aber denjenigen, daß jener noch eine morphologische Komponente abgeht, welche dieser zukommt, nämlich das **außerhalb** eines begrenzten Bezirkes der Chromatin-Plastinsubstazen des Kernes liegende plastinhaltige Cytoplasma. Besser, als alle Worte geben übrigens die Sachlage wohl die zwei nachfolgenden Abbildungen wieder: (siehe p. 299).

Die Art der Reproduktion wurde bei Fig. 8 möglichst der Fig. 7 angepaßt. Aus diesem Grunde erscheint das Chromatin und Achromatin in demselben Tone ausgeführt. Den tatsächlichen Verhältnissen beider Objekte entspräche am besten eine Darstellungsweise, deren Charakter sich aus der Fig. 5 zur Genüge ergibt. Sonst gibt es in den beiden Bildern nichts Schematisiertes. Nur bezüglich der Diskontinuität der Kernmembran in der Fig. 7 wäre noch zu bemerken, daß sie einer früheren theoretischen Anschauung Flemmings entspricht, von welcher

---

[1]) l. c. Arch. f. Hyg. 1904 und Arch. f. Entwickelungsmech. 1906.

[2]) Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906.

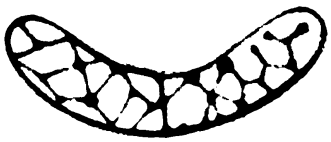
[3]) Růžička, Zur Kenntnis der Natur und Bedeutung des Plastins. (Archiv für Zellforschung. Bd. I. 1908.)

1

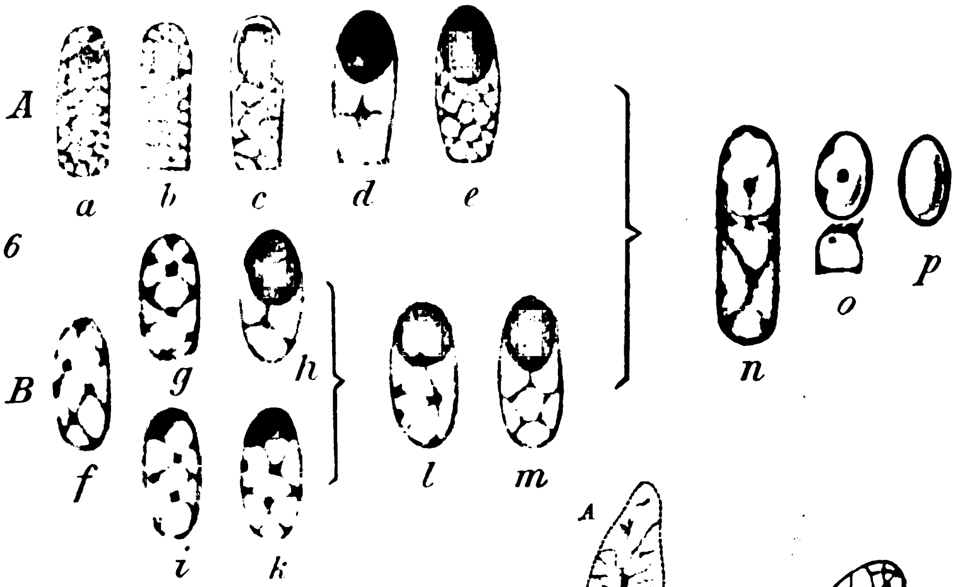
2

3

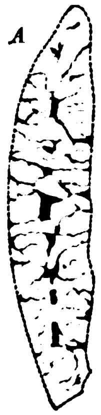
4

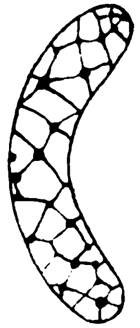


5



6





8

Fig. 7. Muskelkern nach Flemming (aus Heidenhain: Plasma und Zelle, Fig. 37, p. 133).

Fig. 8. Bac. nitri (vegetatives Stadium).

er bald abgekommen ist. Nach der nunmehrigen Vorstellung müßte die Kernmembran als ununterbrochenes Gebilde, genau wie bei Fig. 8 dargestellt werden (conf. hierüber Heidenhain, Plasma und Zelle, p. 133 ff.).

Ich überlasse es der Unparteilichkeit der Leser zu beurteilen, ob die Analogie zweier Objekte noch weitergehen kann, als bei den eben angeführten. Ein einziger Blick auf die beiden Bilder lehrt gewiß in völlig überzeugender Weise, daß die Bakterienstruktur kein Chromidium ist und daß Chromatin und Plastin in den beiden Objekten völlig analog angeordet sind. Wer behaupten würde, daß in dem Bakterium die Kernsubstanzen und das Cytoplasma diffus vermischt sind, müßte — wollte er konsequent bleiben — dasselbe auch von dem Muskelkern behaupten.

Die Analogie der beiden angeführten Objekte ist also evident.

Um jedoch denjenigen entgegenzukommen, denen es aus Rücksichten auf die Zelltheorie unstatthaft erscheint, auf diese, obschon gewiß unbestreitbare, Analogie den Hauptnachdruck zu legen, so bringe ich, zum Zwecke der strengen Unterscheidung der Bakterienstrukturen von den Chromidien und in Zellen enthaltenen Kernen, welche angesichts der oben dargelegten Differenzen dieser Gebilde notwendig erscheint, für dieselben die Bezeichnung „Chromiolenstrukturen“ 1) in Vorschlag.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

Dritte Mitteilung über stickstoffassimilierende Clostridien 2).

Von **Hans Pringsheim.**

In meiner ersten Mitteilung habe ich gezeigt, daß das von mir Clostridium Americanum genannte sticktoffbindende Bakterium durch langsamen Entzug des gebundenen Stickstoffs seine Fähigkeit zur Bindung des Luftstickstoffes wiedergewinnen kann. Schon damals machte ich darauf aufmerksam, daß dieses Clostridium sich vermöge seiner Fähigkeit den Stickstoff bei der Vergärung von Zuckerlösungen im offenen Kolben zu binden, gut zur Entscheidung einer größeren Anzahl die Stickstoffbindung betreffenden Fragen eigne. In der zweiten Mitteilung ging ich dann dazu über, andere Kohlenstoffquellen als Traubenzucker, der bisher für das einzige isolierte stickstoffbindende Clostridium Pasteurianum als einzige Energiequelle ausgenutzt worden war, zur Stickstoffbildung zu verwerten. Dabei konnte ich zeigen, daß Rohrzucker, Milchzucker, Mannit und Stärke demselben Zwecke dienen können. Die Möglichkeit, daß stickstoffbindende Bakterien im Boden die nötigen Energiequellen finden können, war damit auf eine breitere Basis gestellt worden.

Praktisch von größerer Bedeutung als die vorgenannten Resultate ist nun, daß auch Cellulose als Energiematerial zur Bindung des Luftstickstoffs dienen kann. Während Monosaccharide, Disaccharide und mehrwertige Alkohole nur in geringer Menge, Stärke, die sich als Reservematerial bei Pflanzen in reichlicherem Maße findet, etwas häufiger mit den Pflanzenresten in den Boden gelangt, macht die Cellulose den Hauptbestandteil der in der Erdkruste deponierten Polysaccharide aus. Ihr Anteil am Zellhautgerüst der Phanerogamen, ihre Beteiligung am Aufbau der die „Rohfaser“ zusammensetzenden Bestandteile, die sich, in zum Teil hohem Prozentsatz, in den Samennährgeweben, der Schale der Samen, den Früchten, Blättern, Wurzeln Rhizomen, Knollen, Rinden und Stämmen finden, ist eine bedeutende 3). Im Holze unserer Wald-

---

1) Nach dem Eisenschen Terminus „Chromiolen“ für die Chromatinkörner der Chromosomen.

2) Erste Mitteilung: Ueber ein stickstoffassimilierendes Clostridium. (Dies. Centralblatt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 795.) — Zweite Mitteilung: Ueber die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffs und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde. (Ibid. Bd. XX. 1908. p. 248.) — Die Reinkultur des Clostridium Americanum betreffend vergl.: Ueber den Ursprung des Fuselöls und eine Alkohole bildende Bakterienform. (Ibid. Bd. XV. 1905. p. 300.) — Das Sauerstoffbedürfnis des Clostridium Americanum betreffend vergl.: Ueber das Sauerstoffbedürfnis anaërober Bakterien. (Ibid. Bd. XXI. 1908. p. 673.)

3) Vergl. die Zusammenstellung bei Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. I. p. 530.

bäume beträgt der Cellulosegehalt etwa die Hälfte der Trockensubstanz [1]). An sie müssen wir daher vor allem denken, wenn wir nach den möglichen Energiequellen forschen, die zur Anreicherung des Bodens an Stickstoff durch freilebende Bakterien dienen können.

Während nun die Zerstörung des stehenden sowohl wie des gefällten Holzes den sauerstoffbedürftigen höher organisierten Pilzen zukommt, zerfällt die im Boden ablagernde Cellulose der hier überall verbreiteten Vergärung durch die jetzt gut bekannten Cellulosebakterien, die sich mit geringeren Sauerstoffspannungen begnügen.

Schon in meiner zweiten Mitteilung gab ich der Ueberzeugung Ausdruck, daß wir den natürlichen Verhältnissen im Boden durch die Verwendung von Reinkulturgemischen näherkommen können, als durch die Anwendung nur einer einzelnen in Reinkultur vorliegenden Bakterienart, daß wir durch diesen Kunstgriff zu einem tieferen Einblick in die komplizierten Verhältnisse der Bodenzersetzung gelangen werden, als durch die Verwendung von unkontrollierbaren Bodenbakteriengemischen. Diesen neuen Forschungsweg bin ich hier zum ersten Male gegangen, indem ich die Stickstoffbindung mit Cellulose als Energiequelle unter dem Einflusse eines Gemisches von Cellulose-vergärenden und Stickstoff-bindenden Bakterien studierte. Und schon jetzt kann ich andere Resultate in dieser Richtung in Aussicht stellen.

Experimenteller Teil.

Zuerst mußte geprüft werden, ob das Clostridium Americanum nicht für sich allein imstande ist, Cellulose zu vergären. Zu diesem Zwecke wurde Filtrierpapier in einem Liter-Erlenmeyer-Kolben (I) mit einer Nährsalzlösung übergossen, kohlensaurer Kalk und eine geringe Menge von Traubenzucker zugegeben. Wurde diese Lösung sterilisiert und aus einer in kräftiger Gärung befindlichen Winogradskyschen Lösung mit Clostridium Americanum beimpft, so trat zuerst eine Vergärung des vorhandenen Traubenzuckers ein, die infolge der geringen Menge der Dextrose in kurzer Zeit beendet war. Die Cellulose blieb dabei auch während einer 2 Monate langen Inkubation bei 30° unangegriffen. Trotzdem also durch die Traubenzuckergabe für eine reichliche Entwickelung von Clostridium Americanum gesorgt worden war, war die Cellulose für die Bakterien unverwendbar.

Nach den Vorschriften von Omelianski [2]) richtete ich mir nun Cellulosegärungen ein, indem ich in mineralischer Nährsalzlösung (schwefelsaures Ammoniak als Stickstoffquelle) aufgeschwemmte Filtrierpapierstreifen mit Pferdemist beimpfte. Es wurden zuerst zwei Erlenmeyer-Kolben vorbereitet; der eine wurde nach dem Beimpfen sofort, der andere erst nach 15 Minuten langem Erhitzen auf 75°, bei 35° in den Brutraum gestellt. Der Inhalt des nicht erhitzten Kolbens kam bald unter kräftigem Zerfall der Cellulose, der genau so vor sich ging, wie ihn Omelianski beschrieben hat, zur Vergärung. Hier hatte also die Methangärung der Cellulose die Ueberhand gewonnen. Durch zweimaliges Abimpfen der vergorenen Lösung auf sterile Filtrierpapieraufschwemmungen wurden Reinkulturen der Methangärungsbakterien, soweit sie bis jetzt in Reinkultur bekannt sind, gewonnen. Der Inhalt des erhitzten Kolbens, in dem durch Abtöten der vegetativen Bakterienflora die Wasserstoffgärung der Cellulose begünstigt war, bedurfte bis zum Einsetzen der Cellulosegärung einer weit längeren Inkubationsperiode. Dadurch wird ein Anhalt dafür geboten, daß hier wirklich die Wasserstoffgärung der Cellulose eingesetzt hatte. Auch hier wurde durch zweimaliges Abimpfen auf sterile Celluloseaufschwemmungen eine gereinigte Kultur erhalten.

---

[1]) Vergl. v. Tubeuf in Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III. p. 288.

[2]) Lafar, l. c. Bd. III. p. 244.

Mit der so gewonnenen Methangärungskultur wurde nun der vorher mit dem Clostridium Americanum angestellte Kolben (I) beimpft, in der Erwartung, daß die Cellulosebakterien sich mit Hilfe des vom Clostridium Americanum gebundenen Stickstoffs entwickeln und eine Vergärung der Cellulose hervorrufen würden, und daß weiterhin die intermediären Spaltungsprodukte der Cellulose dem Clostridium Americanum als Energiematerial zur weiteren Bindung von Stickstoff dienen könnten, der dann, von den Cellulosebakterien weiter ausgenutzt, zu einer vollständigen Vergärung der Cellulose führen würde. Diese Erwartung wurde nicht getäuscht; nach 1½ Monate langem Stehen im Brutzimmer setzte die Cellulosegärung langsam ein, und unter allmählich sich steigernder Gasentwickelung, die im Laufe einiger Zeit bis zu kräftigem Schäumen anstieg, verschwand die mehr und mehr zusammensinkende Cellulose etwa in 3—4 Wochen aus der Lösung. Hiermit ist aber bei der symbiotischen Wirkung von Cellulose- und Stickstoffbindenden Bakterien der Prozeß noch nicht beendet; er schreitet noch fort, auch nachdem keine Papierstreifen mehr sichtbar sind; und noch während mehrerer Monate sieht man deutlich Gasblasen aus dem Gärkolben aufsteigen. Die am 27. Okt., nach 6 Monate langer, dann beendeter Gärung, ausgeführte Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zeigte einen Stickstoffgewinn von 0,0458 g Stickstoff an. Da die geringe Menge des zugesetzten Traubenzuckers nicht für diese bedeutende Quantität an assimiliertem Stickstoff verantwortlich gemacht werden kann, muß die Cellulose, oder vielmehr deren durch die Cellulosebakterien erschlossenen Abbauprodukte, den stickstoffbindenden Bakterien als Energiequelle gedient haben.

Der Zusatz einer geringen Menge von Dextrose (oder auch einer geringen Menge von gebundenem Stickstoff, was nicht geprüft wurde) ist unbedingtes Erfordernis, da ohne deren Anwesenheit weder die Cellulosebakterien, aus Mangel an einer Stickstoffquelle, noch die stickstoffbindenden Bakterien, aus Mangel an einer geeigneten Kohlenstoffquelle, zur Entwickelung kommen können.

Zu gleicher Zeit, als der Kolben I mit Cellulosebakterien beimpft wurde, setzte ich in einen Halbliterkolben (II) eine neue Cellulosegärung an, bei der Celluloseaufschwemmung in Abwesenheit jeder Stickstoffquelle, jedoch in Gegenwart geringer Dextrosemenge, sofort mit beiden Bakterienarten, den Bakterien der Methangärung der Cellulose und dem Clostridium Americanum, beimpft wurde. In diesem Falle ging die bald einsetzende Dextrosevergärung sofort in die Cellulosegärung über, welche dann ihren Weg, in der vorher geschilderten Weise fortschreitend, zu Ende ging und bei einer am 30. Okt., also nach 6 Monaten, ausgeführten Analyse einen Stickstoffgewinn von 0,0270 g Stickstoff, entsprechend der geringeren Menge des verwandten Filtrierpapiers, anzeigte.

So wie im zweiten Fall wurde mit einer größeren Anzahl von Cellulosegärungen verfahren, die zum Teil mit Methan-, zum Teil mit Wasserstoffbakterien der Cellulosegärung und Clostridium Americanum beimpft wurden. Um quantitative Resultate zu erhalten, wurden jetzt gewogene Mengen von Filtrierpapier angewandt, die in Gegenwart von 0,2 g Dextrose zur Vergärung kamen. Die Mehrzahl der Gärungen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ist noch im Gange. Da bei den größeren Cellulosegaben noch kein Ende der Gärungen abzusehen ist, seien hier die quantitativen Resultate zweier Methan- und einer Wasserstoffgärung, bei denen je 2,5 resp. 5 g Filtrierpapier zur Verwendung kamen, angeführt. Die mikroskopische Kontrolle ($^1/_{12}$ Oelimmersion) ergab einen Befund von Bakterien, die neben zahlreichen Sporen und Clostridien den von Omelianski beschriebenen Cellulosebakterien entsprachen. Jedenfalls waren keine auffallend verschiedenen Formen oder gar andere Pilze vorhanden.

	In 500 ccm Lösung		Stickstoff assimiliert g	Auf 1 g Cellulose Stickstoff assimiliert mg
Wasserstoffgärung	2,5 g Cellulose 0,2 „ Dextrose	Geimpft am 18. Juli 1908 Analysiert am 16. Jan. 1909	0,0190 — 0,0021 0,0169	6,76
Methangärung	2,5 g Cellulose 0,2 „ Dextrose	Geimpft am 18. Juli 1908 Analysiert am 20. Jan. 1909	0,0298 — 0,0021 0,0277	11,08
	In 1000 ccm Lösung			
Methangärung	5 g Cellulose 0,2 „ Dextrose	Geimpft am 18. Juli 1908 Analysiert am 13. Febr. 1909	0,0646 — 0,0041 0,0605	12,10
	10 g Cellulose	Unbeimpft	0,0083	—

Ob bei der langsam verlaufenden Wasserstoffgärung in der Tat weniger Stickstoff gebunden wird, als bei der schneller zu Ende kommenden Methangärung, werden weitere Resultate entscheiden. Sicher ist schon jetzt, daß die Cellulose ein geeignetes Energiematerial ist; sicher ist weiterhin, daß die Menge des auf die Einheit der Energiequelle gebundenen Stickstoffs hier die bei Trauben-, Rohr-, Milchzucker, Mannit und Stärke erhaltenen Resultate weit übertrifft[1]), da dort bei einer 0,5-proz. Rohrzuckerlösung eine Maximalassimilation von 4,2 mg pro 1 g vergorenen Zuckers erzielt wurde. Dieser Befund findet seine natürliche Erklärung in der Tatsache, daß zur Vergärung der Cellulose zwei Bakterienarten und offenbar eine größere Anzahl von Bakterienindividuen nötig sind, die sich des gebundenen Stickstoffes bemächtigen und die ihn teilweise in ihrem Körpereiweiß festlegen und teilweise in die Nährlösung entlassen. In dieser Beobachtung kann die Erklärung für die Tatsache gefunden werden, daß nach übereinstimmenden Befunden verschiedener Forscher in Reinkultur eine quantitativ geringere Stickstoffbindung zu stande kommt als durch Beimpfen mit Bodenbakteriengemische enthaltender Erde, oder beim Begießen des Bodens mit Zucker. Nur mit Hilfe des von den Clostridien in die Nährlösung abgegebenen Stickstoffs können die Cellulosebakterien leben. Der früher[2]) bei der Hefe gefundene und auf analytischem Wege verfolgte Stickstoffumsatz bei der Gärung muß also auch hier stattfinden; auch hier

---

1) Vergl. II. Mitteilung. Tabelle V. p. 253.

2) Pringsheim, H., Ueber die Stickstoffernährung der Hefe. (Biochemische Zeitschr. Bd. III. 1907. p. 223.)

muß sich das Eiweiß der Mikroorganismen in einem dauernden Zustande des Aufbaues und Abbaues befunden haben, ohne den das Leben nicht möglich zu sein scheint.

Zu einem definitiven Urteil über die Ausnutzung der Cellulose im Boden kann man auf dem von mir eingeschlagenen Wege nicht kommen. Durch die angeführten Versuche wird aber erwiesen, daß die Cellulose sehr wohl als Energiematerial für die Stickstoffbindung dienen kann. Daß sie diesem Zwecke auch unter natürlichen Verhältnissen in der Erdkruste dient, wird durch diesen Beweis sehr wahrscheinlich gemacht. Die von Koch1) ausgesprochene Vermutung, daß ein solcher Prozeß im Boden stattfinden kann, die sich auf die analytisch geprüfte Stickstoffanreicherung von mit Getreidestroh vermengtem Boden gründet, wird durch meine Versuche jedenfalls gestärkt.

Ueber die Verbreitung stickstoffbindender Clostridien.

In meiner zweiten Mitteilung versprach ich einige vorgereinigte Kulturen von Clostridien verschiedenen Ursprungs, deren Stickstoffbindungsvermögen ich geprüft hatte, in definitiver Reinkultur zu gewinnen und dann von neuem auf ihr Stickstoffbindungsvermögen zu untersuchen. Dieser Mühe hat mich Bredemann2) enthoben, der inzwischen 27 verschiedene Clostridien verschiedenen Ursprungs auf ihre Fähigkeit zur Bindung des Luftstickstoffs prüfte, und, nachdem er sie mit Hilfe des von mir angegebenen Regenerationsverfahrens wieder zur Stickstoffbindung gebracht hatte, zur Stickstoffassimilation fähig fand. Meine Annahme der großen Verbreitung stickstoffbindender Clostridien auf der Erde hat somit eine Bestätigung gefunden.

Charlottenburg, Ende Januar 1909.

Nachdruck verboten.

Die Gruppe des Bacillus mycoides Flügge.

Ein Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Spaltpilze.

Von Dr. **K. Holzmüller**, Heidelberg.

Mit 23 Textfiguren.

I. Einleitung.

Die Bodenbakteriologie hat neben einem rein wissenschaftlichen Interesse die größte Bedeutung für die Praxis der Landwirtschaft. Denn der wichtigste pflanzliche Nährstoff, der Stickstoff, steht ununterbrochen unter dem mächtigen Einfluß der Bodenbakterien, der nicht immer in einem der Pflanzenernährung günstigen Sinne ausgeübt wird. Das

---

1) Nach Koch, Litzendorff, Krull und Alves, Die Stickstoffanreicherung des Bodens durch freilebende Bakterien und ihre Bedeutung für die Pflanzenernährung. (Journ. f. Landwirtsch. 1907. p. 373.)

2) Bredemann, Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden, bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien. (Berichte d. Deutschen Botan. Gesellsch. Bd. XCVI. 1908. p. 362.)

höchste Ziel des praktischen Landwirts wäre es daher, das gesamte Wirken der Bodenbakterien zielbewußt zu lenken und in eine dem Kulturziel günstige Richtung zu zwingen.

Wenn auch die Bodenbakteriologie schon große Erfolge zu verzeichnen hat, so sind doch ihre praktischen Errungenschaften dem gewaltigen Ziele gegenüber noch verschwindend klein, jedoch viel wird noch von der Zukunft zu erwarten sein, wenn erst das geheimnisvolle Wesen und Wirken der einzelnen Mikroorganismen des Bodens gründlicher, als es bis heute geschehen, erforscht ist.

Hierzu einen kleinen Beitrag zu leisten, hat sich die vorliegende Arbeit durch nähere Untersuchung der Gruppe des Bacillus mycoides, dem eine wichtige Rolle zugeschrieben wird, zur Aufgabe gestellt.

Der Bacillus mycoides Flügge war schon wiederholt Gegenstand der Untersuchung, und mehrere Beschreibungen wurden schon für ihn ausgeführt. Diese stimmen jedoch nicht alle miteinander überein.

Worin die Abweichungen bestehen, kann wohl am besten durch eine Zusammenstellung der Beschreibungen gezeigt werden. Es sei dabei die fast immer angewandte tabellarische Anordnung beibehalten.

Mikroskopisches Aussehen: Ziemlich große, dicke, an den Ecken kaum abgerundete Stäbchen, 1,6—3,6 μ lang und 0,8 μ breit (Lehmann und Neumann) [1,6—2,4 μ lang und 0,9 μ dick (Eisenberg)], zuweilen (Lehmann und Neumann) [oft (Flügge), meist (Gottheil)] lange Scheinfäden bildend.

Sporenbildung: Die Sporen werden endogen erzeugt, liegen ungefähr in der Mitte der Bakterienzelle, haben ovale Form (Flügge) und sind 0,83 μ breit und 1,4—2,2 μ lang (Gottheil) [1,3—1,48 μ lang und 0,74—0,9 μ dick (Migula)]. Auf Agar und Kartoffeln bilden sich sehr bald Sporen. Das Stäbchen baucht sich in der Mitte, wo die Spore erscheint, etwas aus (Migula).

Keimung der Sporen: polar (Gottheil und Guilliermond), [äquatorial (Grethe)]. Die „Sporangienmembran“ haftet bei der Keimung noch an der Sporenmembran (Gottheil).

Eigenbewegung: Beweglich (Flügge, Eisenberg). [Schwach beweglich (Migula und Gottheil). Unbeweglich und schwach beweglich (Lehmann und Neumann)].

Begeißelung: peritrich (Gottheil, es gelang von sehr vielen Präparaten nur ein einziges).

Färbbarkeit: Auch nach Gram (Lehmann und Neumann, Migula).

Sauerstoffbedürfnis: Streng aërob (Eisenberg, Migula). Bei Sauerstoffabschluß kümmerliches Wachstum (Lehmann und Neumann).

Temperaturoptimum: Zimmertemperatur (Eisenberg), 28 bis 30° (Gottheil).

Gelatineplatte: „In Gelatineplatten entstehen weiße Trübungen, in denen weißliche feine Fäden von unregelmäßigem, wirrem, verästeltem Verlauf hervortreten. Dieses Netzwerk von Fäden erreicht nach 12 bis 20 Stunden bereits eine Ausdehnung von ca. 10 mm und erinnert sosehr an ein Pilzmycel, daß man zweifelhaft sein kann, ob ein solches oder eine Spaltpilzkolonie vorliegt. Die Fäden bleiben zart und fein, solange sie in der Tiefe der Gelatine liegen, verbreiten sich bedeutend und verlieren die scharfe Begrenzung, sowie sie an die Oberfläche ge-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

drungen sind. Es sind meistens nur wenige Oberflächenkolonieen vorhanden, welche ebenfalls aussehen wie weiße Punkte, von welchen in unzählbarer Menge nach allen Seiten hin feine hyphenähnliche Fäden auslaufen. Bald treten die einzelnen Kolonieen durch solches Fädengewirr in Verbindung.

Mikroskopisch erkennt man die Zusammensetzung solcher Bündel und Zellfäden, die meist locker nebeneinander liegen, zuweilen aber dicht verfilzt sind und im ganzen einen vielfach gekrümmten und gewundenen Verlauf zeigen. Die Stäbe dieser ein- und mehrstäbigen Zellfäden sind 50- bis 150-lang und scheinen einzellig zu sein; untersucht man sie jedoch mit Chlorzinkjod, so erkennt man, daß die Stäbe meistens 50- bis 150-zellig sind. Mit dem Durchbrechen der Fäden an der Oberfläche tritt gleichzeitig Verflüssigung der durch die Ausbreitung der Kolonieen diffus getrübten obersten Schicht ein. Nach mehreren Tagen ist die Gelatineplatte von einer fest zusammenhängenden Haut bedeckt. Schwärmer waren nicht nachweisbar" (Gottheil). Um alle Angaben über die Gelatineplattenkultur beisammen zu haben, ist den Worten Gottheils nur noch die folgende Ausführung Lehmann und Neumanns hinzuzufügen: „50-fache Vergrößerung: Farblose, mehr oder weniger gewundene außerordentlich ineinander verschlungene Fäden. Im Mittelpunkt ist die Kolonie bisweilen verfilzt, undurchsichtig. Die Verzweigungen sind nur scheinbare, indem nämlich immer zwei, eng aneinanderliegende Fäden, sich am scheinbaren Verzweigungspunkt voneinander entfernen" (Lehmann und Neumann).

Gelatinestich: „Man findet nach einigen Tagen längs des Stiches feinste Härchen, welche in dichter Reihe in die Gelatine vordringen. Eine dicke Haut entwickelt sich auf der Oberfläche der Gelatine, und nach 2—3 Wochen ist meist, bei normaler, relativ fester Gelatine, die Verflüssigung der Gelatine in einer Höhe von 1—2 cm eingetreten. Die Haut hat sich zusammengeballt und ist hinabgesunken; die verflüssigte Gelatine ist vollständig klar. Der feine Härchenwuchs war in Kulturen, welche 4 Wochen alt und älter waren, noch deutlich vorhanden. Die Gelatine wurde langsam zylinderförmig weiter verflüssigt. Nach 2 Jahren stellte ich nochmals eine Gelatinestichkultur mit demselben Materiale her und fand, daß eine Verflüssigung der Gelatine ausblieb" (Gottheil).

„Die Härchen sind parallel und gleichlang. Die Verflüssigung beginnt schalenförmig. Wenn die Haut hinabgesunken ist, entsteht sofort eine neue an der Oberfläche, so daß man Kulturen mit vielen Häutchen finden kann." (Lehmann und Neumann.)

„Die Haut ist nach 18 Stunden bereits eingesunken. Die Härchen sind verzweigt und filzartig verflochten. Nach 10 Tagen schwimmt die ganze Bakterienmasse an der Oberfläche." (Eisenberg und Migula.)

Agarstrichkultur: „Auf Agar wächst der Bacillus ebenfalls in Gestalt eines schnell sich ausbreitenden, wurzelartigen Geflechts; nach 20—24 Stunden ist die Kolonie rauh, fein runzelig, später wird sie dicker, feucht und grauweiß. Nach mehreren Tagen sind in den Agar fadenförmige Strahlen hineingewachsen." (Gottheil.)

„Auf schrägem Agar bilden sich graue, fettglänzende Auflagerungen. Nach 48 Stunden ist die ganze Schnittfläche gleichmäßig davon überzogen." (Migula.)

Agarplatte: (Nur von Lehmann und Neumann erwähnt) „a) Natürliche Größe: Den Kolonieen der Gelatineplatte anfangs äußerst ähnlich, aber derber; das weitere Wachstum ist absolut unregelmäßig, und man findet sowohl Kolonieen mit derbem Zentrum und stark aus-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

geprägten Hauptzweigen, als auch solche, in denen die Mittelpartie zart bleibt und um dieselbe herum das Wachstum in ringförmiger Anordnung vor sich geht. b) 50-fache Vergrößerung: Genau wie die Gelatineplatte.“ (Lehmann und Neumann.)

Agarstich: „Stichkanal: Parallele, gewöhnlich ungleichlange pinselförmige Aestchen, zart grau, aber etwas derber als im Gelatinestich. Oberfläche: Genau wie auf der Agarplatte.“ (Lehmann und Neumann.)

„Die Oberfläche wird nach mehreren Tagen gelblichweiß, saftig, glänzend, runzelig.“ (Gottheil.)

Kartoffelkultur: „Auf Kartoffeln entstand langsam eine weißliche, körnige oder mehr homogene Auflagerung.“ (Gottheil.)

Bouillonkultur: „Bei vollständiger Ruhe wird eine dünne Kahmhaut entwickelt. Die Haut fällt leicht ab und man findet dann meist nach 4—5 Tagen bei 28° in der sonst klaren Flässigkeit eine Haut flottieren. Schüttelt man die Lösung um, so zerfällt die lockere Haut, und die Flüssigkeit erscheint von Fäden durchsetzt. Diese Haut besteht aus langen ein- oder mehrstäbigen Zellfäden, deren Stäbe bis 100- und 150-zellig werden können.“ (Gottheil.)

Die chemischen Leistungen werden für die ganze Gruppe der „aëroben Bacillen“, zu denen Bacillus mycoides gerechnet wird, von Lehmann und Neumann folgendermaßen angegeben:

1) Milch wird bei alkalischer oder sehr schwach saurer Reaktion koaguliert unter späterer Auflösung des Koagulums. Vereinzelt wird Milch peptonisiert, ohne vorher koaguliert zu sein.

2) Alle bilden aus Traubenzucker wenig Säure, kein Gas. — Aus Milchzucker wird gar keine oder wenig Säure gebildet.

3) Indolbildung fehlt, seltener ist sie in Spuren vorhanden, die H_2S-Bildung ist wechselnd, nie stark. (Bei Bacillus mycoides fehlt sie vollständig.)

In der Nährlösung, die folgendermaßen zusammengesetzt war: 1 Proz. Pepton, 1 Prom. Kaliumphosphat, 0,1 Prom. Chlorcalcium, 0,3 Prom. Magnesiumsulfat, 0,1 Prom. Chlornatrium, findet nach Gottheil Alkalibildung statt. Gasbildung findet nicht statt (Gottheil).

Nach Marchal besitzt Bacillus mycoides in besonderem Maße die Fähigkeit, Eiweiß zu zersetzen. Fast die Hälfte des Eiweißstoffes geht in Ammoniak über. 46 Proz. des vorhandenen organischen Stickstoffes wird in Ammoniak verwandelt.

Eine ganz besondere Angabe über Bacillus mycoides wird von Olav Johan-Olsen in seiner Arbeit „Zur Pleomorphismusfrage“ gemacht. Der Verfasser schreibt: „Daß übrigens auch echte Bakterien Luftkonidien haben können, dafür gibt Bacillus mycoides den besten Beweis. Wird derselbe längere Zeit hindurch auf Sand und Kies, welche mit Ernährungflüssigkeit befeuchtet sind, gezogen, so kriecht der Pilz auf den Stein und bildet hier ein weißes, trockenes Häutchen, welches sich im Wasser nicht untertauchen läßt. Präpariert man das Häutchen vorsichtig, so kann man sehen, daß über den in der Flüssigkeitslage sich befindenden Bacillen sich stark verästelte Pseudohyphen mit kurzen dicken Pseudokonidien erheben, welche außerordentlich leicht abfallen. Sie gleichen einer Maisbrandmonilia, sind aber viel kleiner.

Durch Fixation mit Osmiumsäure und Alkohol kann man wahrnehmen, daß alle Konidien kurze, aufgeschwollene, sporenhaltige Bacillen sind, mit einer endogenen Spore in jeder Konidie.“

Es soll gleich hier erwähnt werden, daß es nicht gelungen ist, diese Angabe zu bestätigen.

Außer einigen Bemerkungen, die gelegentlich anderer Arbeiten über Bacillus mycoides gemacht worden, und die, soweit sie von Belang sind, an den betreffenden Stellen dieser Arbeit erwähnt werden sollen, ist damit alles zusammengestellt, was über Bacillus mycoides Flügge geschrieben wurde.

II. Morphologischer Teil.

Die verschiedenen Widersprüche, die zwischen den einzelnen Beschreibungen zutage getreten sind, lassen, da sie ja nicht auf ungenaue oder gar unrichtige Beobachtung zurückgeführt werden dürfen, zwei Erklärungsmöglichkeiten zu. Entweder hat der Bacillus mycoides eine große Variationsfähigkeit, oder aber den Autoren haben bei ihren Untersuchungen nicht dieselben Bakterienarten vorgelegen.

Nach den im folgenden niederzulegenden Beobachtungen ist wohl die zweite Annahme die richtige. Es gibt nämlich eine ganze Reihe von „Wurzelbacillen“ d. h. solcher Bacillen, die auf gallertigem Nährboden eine wurzelartig verzweigte Kolonie haben. Sie sollen vorläufig als Stämme des Bacillus mycoides bezeichnet werden. Es wurden vier verschiedene Stämme isoliert, und zwar zwei aus dem Blinddarm des gesunden Meerschweinchens (Bacillus mycoides α und β), einer aus dem Darm des Mehlwurmes (Bacillus mycoides γ) und einer aus der Erde (Bacillus mycoides δ). Alle vier Stämme haben eine größere oder kleinere Anzahl von Unterscheidungsmerkmalen, die sich auch nach längerer Kultur nicht verlieren, und die immer gleichmäßig in den einzelnen Kulturen wieder auftreten. Zu erwähnen ist noch, daß keiner der vier Stämme völlig mit dem von Král in Prag bezogenen Bacillus mycoides Flügge übereinstimmt.

Wenn es gelungen wäre, die einzelnen Stämme durch längere Kultur ineinander überzuführen, so wäre entschieden die erste Annahme, die der Variationsfähigkeit, die richtige gewesen.

Die Beschreibung der Stämme, die nun folgen soll, wird wohl am besten in der Weise durchgeführt, daß einer genau betrachtet wird, während für die übrigen dann nur noch die Unterschiede angegeben werden.

Für die Beschreibung einer Bakterienart ist es von großer Wichtigkeit, daß die näheren Umstände, unter denen die Kulturen ausgeführt werden, vollständig und genau angegeben werden. Denn nur dann sind die einzelnen besonderen Merkmale für die Diagnose verwendbar.

Um nun hier bei dem Vergleiche der einzelnen Stämme ja keinen Faktor außer acht zu lassen, wurden diese immer in Parallelkulturen gezüchtet.

Die Zusammensetzung der einzelnen dabei verwendeten Nährmedien soll hier ein- für allemal vorausgeschickt werden:

1) Als Nährflüssigkeit wurde die folgende mit Nährbouillon oder auch kurz mit Bouillon bezeichnete Lösung benutzt: In 100 g Wasser wurden 1 g Pepton, 0,8 g Liebigs Fleischextrakt und 0,5 g Chlornatrium unter Erwärmen gelöst, die Lösung filtriert und im Autoklaven bei 2 Atm. Dampfdruck sterilisiert.

2) Um den mit „Bouillonagar“ bezeichneten gallertartigen Nährboden zu erhalten, wurde 1 g Agar-Agar in 100 g Bouillon gelöst.

3) Die „Bouillongelatine“ war eine Lösung von 8 g Gelatine in 100 g Bouillon.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Allen Nährmedien wurden bis zur neutralen oder schwach alkalischen Reaktion Soda zugesetzt.

Die angeführten Messungen wurden immer an lebendem Material ausgeführt und bei den Kulturen jeweils, wenn nichts anderes angegeben ist, eine Temperatur von 30° C angewendet.

Bacillus mycoides α.

Die Sporen haben die Gestalt eines Ellipsoides, besitzen eine an der ganzen Oberfläche gleichmäßig ausgebildete, ziemlich dicke Membran 1), sind 1,5—1,8 μ lang und 0,85—1,12 μ breit. Die ausgereiften Sporen sind nie von der Membran der Sporenmutterzelle umgeben.

Um die Auskeimung der Sporen mit der Oelimmersion $^1/_{12}$ verfolgen zu können, wurde ein Tropfen des mit wenig Sporenmaterial geimpften Bouillonagars auf das Deckglas gebracht und dieses auf den hohlgeschliffenen Objektivträger gelegt.

Die Spore schwillt bei einer Temperatur von 25—28° C zunächst ziemlich an, verliert ihren starken Glanz und umgibt sich mit einem hellen Lichthof. Das Keimstäbchen tritt dann nach ungefähr 12—15 Stunden meist an dem einen Pole der Spore aus. Die Sporenmembran bleibt oft noch sehr lange als Kappe über das Keimstäbchen gestülpt (Fig. 1). Oefter wird auch die Sporenmembran seitlich gesprengt, und das Keimstäbchen baucht sich kommaförmig hervor. Dieses teilt sich alsbald an der Stelle der stärksten Krümmung, und es wachsen von dieser Stelle aus zwei Bakterienfäden parallel weiter. Eine dritte, seltenere Art der Keimung vollzieht sich dadurch, daß das Keimstäbchen an beiden Polen zugleich hervorbricht und an beiden Enden weiter wächst. Die Häufigkeitszahlen dieser drei Keimungsarten verhalten sich ungefähr wie 10:2:1. Man kann daher sagen, die Keimung findet im allgemeinen polar statt.

Die Verschiedenartigkeit der Sporenkeimung kann man vielleicht folgendermaßen erklären:

Das Keimstäbchen wird im Innern der Spore in deren Richtung angelegt. Es streckt sich und übt dann auf die Sporenmembran an den Polen einen größeren Druck aus, als an irgend einer anderen Stelle. Da nun die Sporenmembran an allen Stellen gleichmäßig ausgebildet ist, also keine durch Verdünnung oder gar Oeffnung für die Keimung vorgebildete Stelle hat, so muß natürlich im allgemeinen die Sporenmembran, dem Drucke des Keimstäbchens folgend, an einem Pole zuerst aufbrechen. Nur durch Zufall wird es vorkommen, daß die Membran dem Drucke an beiden Polen zugleich nachgibt. Wenn jedoch die Membran an den Polen dem Drucke des Keimstäbchens solange widersteht, bis eine Krümmung des Keimstäbchens infolge seines Wachstums eingetreten ist, so wird von diesem an der Stelle seiner stärksten Krümmung auf die Sporenmembran ebenfalls ein größerer

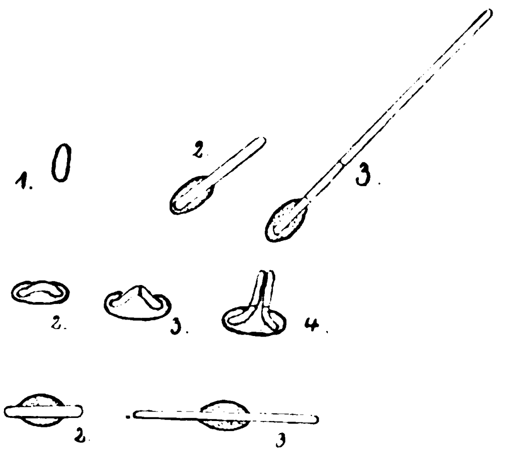


Fig. 1. Keimung des Bacillus mycoides.

---

1) An der Sporenmembran aller Formen, die in dieser Arbeit beschrieben werden, ist mit der homogenen $^1/_{12}$ Immersion ein Unterschied zwischen Exine und Intine nicht zu erkennen.

Druck ausgeübt. Und es ist dann natürlich, daß die Sporenmembran öfters auch an dieser Stelle dem Drucke nachgibt. Diese Erklärung wird noch durch den Umstand gestützt, daß diese letztere Art der Keimung immer später eintritt, als die beiden anderen Arten.

Ist nun das Keimstäbchen aus der Spore ausgetreten, so wächst es anfänglich in gerader Richtung sehr rasch weiter. Bei einer Temperatur von 25—28° konnte eine Geschwindigkeit von 180—240 μ in der Stunde festgestellt werden. Bald nimmt die Geschwindigkeit noch zu und beträgt 280—320 μ in der Stunde. Die Teilung in einzelne Zellen erfolgt dabei erst allmählich. Irgendwelches Schwärmen der Keimstäbchen konnte nicht beobachtet werden.

Wenn das Keimstäbchen 30—40 μ lang ist und schon einige Zellteilungen erfolgt sind, tritt eine Biegung des Fadens ein, die sich wohl auf folgende Weise erklären läßt: Solange das Keimstäbchen aus einer Zelle besteht, vollzieht sich das Wachstum durch einfache Streckung dieser Zelle in gerader Richtung; sobald aber mehrere voneinander unabhängige Zellen vorhanden sind, strecken sich diese unabhängig voneinander. Da nun die Reibung oder irgendwelche andere mechanischen Widerstände ein Fortschieben der Spitze verhindern oder doch nicht in dem Maße stattfinden lassen, als es das Wachstum der hinteren Zellen erforderte, so muß das Ausbiegen des Fadens nach der Seite stattfinden.

Der Zusammenhang zwischen den einzelnen Zellen ist so fest, daß der Faden dem Drucke ziemlich lange nur durch einfache Biegung antwortet. Schließlich entsteht jedoch eine Ecke an einer Stelle, an der zwei Bakterienzellen zusammenstoßen. Durch weiteres Nachschieben und weiteres Wachstum wird die Ecke immer schärfer, und allmählich findet eine völlige Trennung der beiden Stäbchen statt. Es wachsen dann von der Ecke aus zwei Bakterienfäden eng aneinanderliegend parallel weiter (Fig. 2).

Es kommt auch öfter vor, daß an einer Stelle des Bogens der Verband zweier Zellen dadurch gelöst wird, daß eine Zelle mit dem einen Ende nach der Seite ausbiegt und dann meist in der Tangentenrichtung des Bogens weiterwächst.

Auf diese Weise entstehen allmählich eine große Anzahl von Fadenenden, an denen allen sich diese Vorgänge wiederholen können.

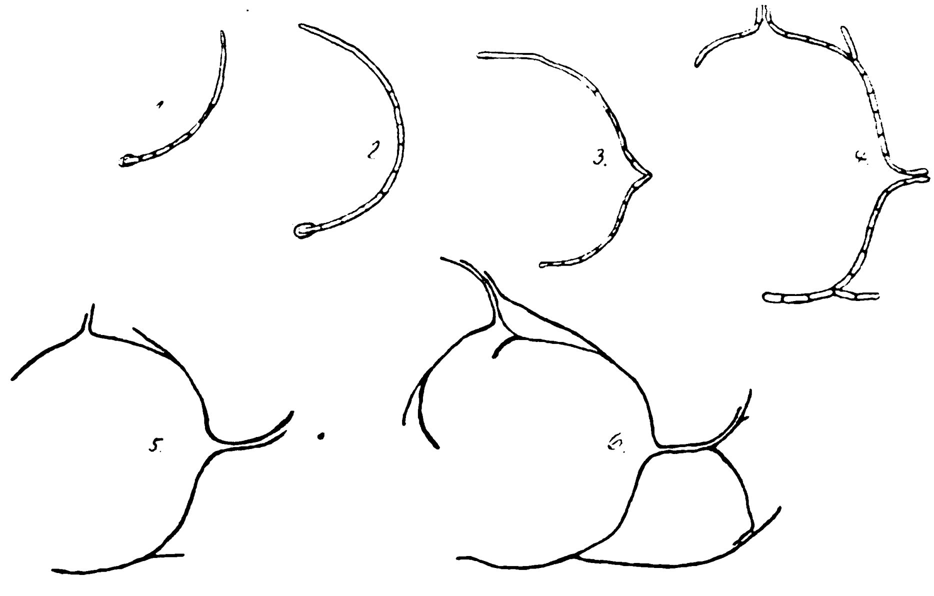


Fig. 2. Entstehung der Kolonie bei Bacillus mycoides α.

Trifft ein Fadenende in seinem Wachstum auf einen anderen Faden, so wächst es in der Richtung dieses weiter, indem es sich eng an die Seite anlegt. Eine Kreuzung zweier Fäden findet im allgemeinen nur statt, wenn sie unter einem rechten Winkel aufeinander stoßen. Die scheinbaren Kreuzungen, die man öfters beobachtet, vollziehen sich in verschiedenen Höhenlagen des Agars.

Soweit konnte die Entstehung der Kolonie im „hängenden Tropfen“ verfolgt werden. Der weitere Verlauf mußte jedoch dann auf der Agarplatte selbst beobachtet werden.

Um für die entstehende Kolonie ausgiebigen Raum zu haben, müßte auf die Agarplatte nur eine einzige Spore, und zwar in ihre Mitte, gebracht werden. Da es jedoch fast ein Ding der Unmöglichkeit ist, dies mit der Methode des einfachen „Plattengießens“ zu erreichen, so wurde eine kleine Menge Sporenmaterial in die Mitte der schon erstarrten Agarplatte gelegt. Dies Verfahren war nicht nachteilig, da ja die Anfänge der Koloniebildung im hängenden Tropfen beobachtet waren und dort schon die junge Kolonie von vielen einzelnen Fäden gebildet wurde. Ob diese nun aus einer Spore stammen oder von mehreren, ist an und für sich ganz gleichgültig. Demgegenüber hatte man den Vorteil erreicht, daß die entstehende Kolonie die ganze Platte zur uneingeschränkten Verfügung hatte.

Wenn rasch eine neue Kolonie erhalten werden sollte, so wurde auch die Impfung der Agarplatte mit jungen Bakterienstäbchen vorgenommen. Daß es auf die Form der entstehenden Kolonie von Einfluß ist, „ob man Sporenmaterial oder eine andere Entwickelungsstufe der Bakterien aufimpft“, wie es Gottheil angibt, konnte hierbei nicht gefunden werden. Es ist dies auch kaum denkbar. Denn sobald z. B. die Sporen ausgekeimt haben, ist genau derselbe Zustand erreicht, wie wenn man gleich junge Bakterienstäbchen aufimpft. Es kann nur die Zeit, die zur Bildung der Kolonie nötig ist, kürzer oder länger sein, je nach der Entwickelungsstufe der Bakterien, von der man ausgeht.

Ebenso hat, wenigstens bei den hier untersuchten Arten, auch die Menge der Impfmasse keinen Einfluß auf die Form der Kolonie (Neide 1904).

Nach 12 Stunden hat sich dann von der Impfstelle aus eine kleine Kolonie mit einem Durchmesser von 1 cm gebildet, und nach 60 Stunden beträgt ihr Durchmesser bereits 5—6 cm.

Das äußere Aussehen der Kolonie erinnert außerordentlich an ein Pilzmycel. Nur fällt es sofort auf, daß die einzelnen Aeste, wie es besonders bei den stärkeren hervortritt, immer in einem Bogen nach links hin verlaufen (Fig. 3). Worauf diese Bogenbildung beruht, konnte bisher nicht festgestellt werden. Von der Spannung innerhalb des Agars, die von Platte zu Platte verschieden ist, kann sie nicht abhängen, da sie mit einer außerordentlichen Gleichmäßigkeit auftritt. Ebenso hatte auch der Versuch, sie auf die Erdanziehung

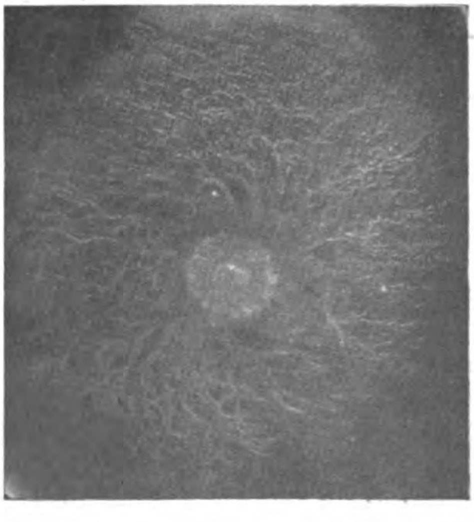


Fig. 3. Bacillus mycoides α. 36 Stunden alte Agarplattenkolonie. $^{10}/_{9}$ d. nat. Gr.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zurückzuführen, ein negatives Ergebnis. Nur so viel ist zu sagen, daß gewisse optimale Bedingungen nötig sind, da bei erhöhter und erniedrigter Temperatur, im Sonnenlicht oder ohne Sauerstoff die Bogenstellung unterbleibt (Fig. 4).

Die einzelnen Aeste sind ziemlich derb und häufig verzweigt, solange die Kolonie an der Oberfläche des Nähragars liegt. Die Auflagerung erscheint graubraun und feuchtglänzend. Wächst die Kolonie innerhalb des Agars, so ist sie grau und matt und nur bei genauer Beobachtung kann man sehr dünne, feine Aestchen wahrnehmen.

Bei 107-facher Vergrößerung erkennt man, daß die mit unbewaffnetem Auge sichtbaren Aeste von vielen parallel zusammengelagerten Bakterienfäden gebildet werden.

Wie diese Zusammenlagerungen zustande kommen, kann man bei 310facher Vergrößerung leicht verfolgen: Wie schon oben bei den ersten Anfängen der Kolonie angegeben wurde, wächst ein Bakterienfaden, sobald er mit seiner Spitze an einen anderen anstößt, diesem parallel weiter. Da sich dies immer und immer wiederholt, so bilden sich so dichte Zusammenlagerungen, daß sie mit unbewaffnetem Auge als derbe Aeste beobachtet werden können. An Biegungen eines Astes, aber auch an beliebigen anderen Stellen, können sich die Bakterienfäden einzeln oder in ganzen Gruppen wieder abtrennen, wodurch die Verzweigungen der Aeste vermehrt werden, die meistens jedoch dadurch zustande kommen, daß die Bakterienfäden bei ihrer Anlagerung auch den Verzweigungen der einzelnen Fäden folgen.

Der ganze Vorgang kann nur am Rande der Kolonie beobachtet werden, wo die Bakterienfäden und -äste noch vereinzelt liegen. Die Mitte der Kolonie ist durch ein regelloses Fadengewirr gebildet, und die bei natürlicher Größe noch hervortretenden Aeste sind bei 310-facher Vergrößerung nicht mehr zu erkennen. Es fragt sich nun, wie dieses regellose Gewirre aus der klaren, übersichtlichen Anordnung der jungen Kolonie und des Randes der älteren entstehen können: In nicht zu weiter Entfernung vom Rande der Kolonie kann man oft beobachten, wie ein ursprünglich völlig gerader Faden durch das Wachstum seiner Zellen, da ein Vorwärtsschieben des ganzen Fadens nicht mehr möglich ist, zu allen möglichen Windungen und Biegungen veranlaßt wird. Infolge hiervon treten dann auch viele Verzweigungen der Fäden auf. Einerseits wird dadurch die parallele Zusammenlagerung aufgehoben, da die einzelnen zusammenliegenden Fäden im allgemeinen nicht in derselben Weise gebogen werden. Andererseits wird infolge der vielen Verzweigungen die ganze Fläche des Agars bald mit Bakterienfäden dicht bedeckt sein. Da die entstehenden Biegungen

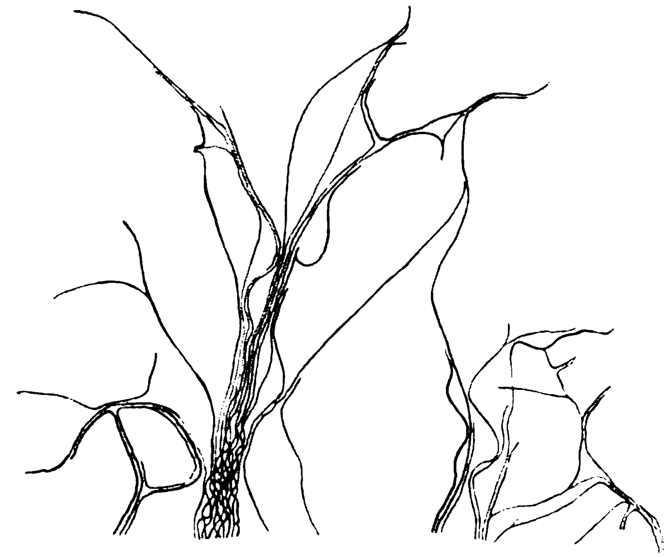


Fig. 4. Randstück der 2 Tage alten Agarplattenkolonie des Bacillus mycoides α.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

im allgemeinen nur klein sind, so werden die Aeste zwar nicht aufgehoben, aber ihre scharfe Ausprägung geht verloren, da die ganze Fläche mit Bakterien bedeckt ist.

Daß die Bildung der Kolonie auf rein mechanischen Ursachen beruht, kann noch durch die folgenden Beobachtungen belegt werden.

Trifft ein Bakterienfaden einen zweiten unter einem rechten Winkel, so tritt im allgemeinen, wie oben schon angegeben wurde, eine Kreuzung der beiden Fäden ein. Einige Male wurde jedoch beobachtet, daß der zweite Faden, dem Drucke des ersten nachgebend, zuerst nach der Seite ausbog und schließlich durchbrach. Die drei so entstandenen Fadenenden wuchsen dann in drei parallelen Fäden weiter (Fig. 5).

Im zweiten Falle, der nur wenig beobachtet werden konnte, traf ein Bakterienfaden genau in die Ecke zweier sich teilenden Aeste. Er bildete zunächst eine Krümmung, bis schließlich von der Stelle stärkster Krümmung aus ein Faden in entgegengesetzter Richtung weiterwuchs.

Schließlich sei noch erwähnt, daß die Bakterienfäden auch an kleinen Holzfasern, die auf die Agarplatte gebracht werden, parallel wachsen.

Nun wurden noch mikroskopische Präparate angefertigt, um mit der homog. Oelimmersion $^1/_{12}$ das Bakterienmaterial untersuchen zu können.

Dazu wurden auch die verschiedenen Färbemethoden angewendet. Basische Anilinfarbstoffe erzeugen eine sehr gute Färbung, da die Farbstoffe in ausgiebiger Weise gespeichert werden. Eine Entfärbung nach der Gramschen Methode tritt nicht ein, dagegen wird die Färbung durch 3-proz. Salzsäurealkohol fast vollständig aufgehoben. Nach der Güntherschen Sporenfärbungsmethode wurden schöne Präparate erzielt.

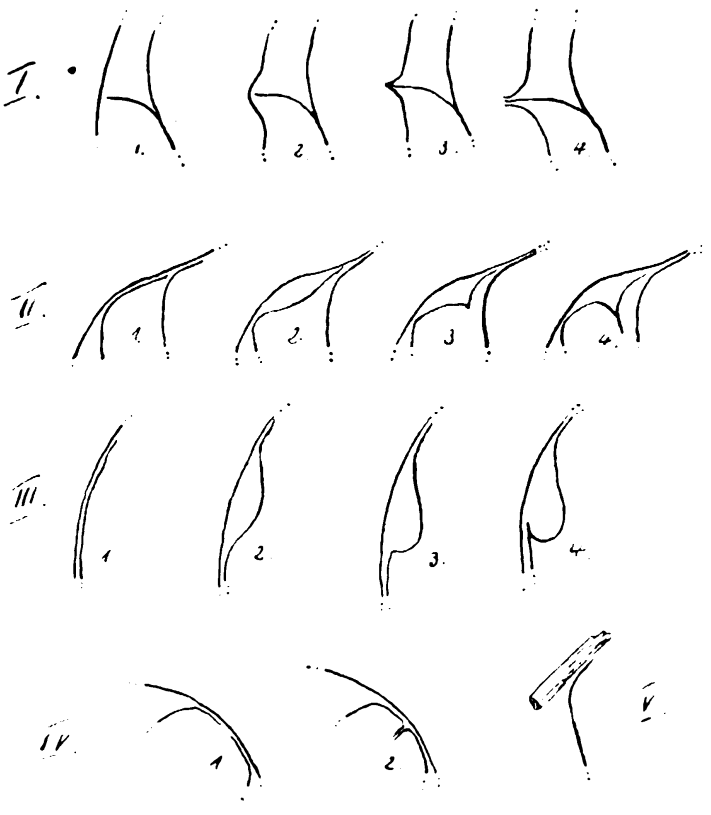


Fig. 5. Entstehung einzelner Verzweigungen.

An ungefärbtem, lebendem Bakterienmaterial, das vom Rande der Kolonie auf der Agarplatte entnommen wird, findet man neben Stäbchen von 3,37—5,28 μ Länge und 0,95—1,36 μ Breite häufig auch solche, die 12—18 μ lang und länger sind. Die Stäbchen sind meist zu langen Zellfäden verbunden, wobei die langen Zellen immer am Ende liegen. Sehr oft wird auch eine falsche Verzweigung der Fäden wahrgenommen. Bringt man die Bakterienmassen in reines Wasser, so sieht man, wie die langen Zellen innerhalb weniger Minuten in einzelne kurze Zellen sich teilen. Diese Beobachtung steht mit der Angabe Gottheils in Widerspruch, daß die Teilwände längerer Stäbchen, die einzellig erscheinen, erst nach Färbung mit Fuchsin zu erkennen seien. Dies erklärt sich wohl dadurch, daß während der Vorbereitungen zur Färbung die Teilwände gebildet wurden.

Eine Bewegung der Bakterien konnte nie beobachtet werden. Ebenso fielen auch die Geißelfärbungen negativ aus. Die Stäbchen sind von einer Kapsel umgeben, die nach Färbung mit Methylenblau deutlich hervortritt.

Entnimmt man das zu untersuchende Material aus der Mitte der etwa 3 Tage alten Agarplatte, so findet man, daß die meisten Zellen, die noch zu Zellfäden verbunden sind, Sporen enthalten. Die hell leuchtenden Sporen stimmen in ihrer Längsrichtung mit der ihrer Mutterzelle überein. Die Zellen, die Sporen enthalten, haben weniger scharfe Ecken, als die ohne Sporen, sind nur 2,83—3,68 μ lang, dagegen 1,45 bis 1,87 μ breit.

Auf 14 Tage alten Agarplatten findet man überhaupt nur Sporen, und zwar solche, die von der Mutterzelle befreit sind. Auf der Platte liegen sie noch in Reihen angeordnet, so daß das charakteristische Aussehen der Kolonie erhalten bleibt.

Nach diesen ausführlichen Beschreibungen können die übrigen für die Diagnose angestellten Untersuchungen kürzer geschildert werden.

Bei der Agarstrichkultur gehen vom Impfstrich zahlreiche Aestehen aus, die in einer Biegung gegen das untere Ende des Reagenzglases (15 mm Weite) nach 24 Stunden den Glasrand erreichen. Ist die Oberfläche ziemlich dicht mit Bakterienästchen bedeckt, so dringen die Bakterien in flockigen Ausstrahlungen in die Tiefe des Agars ein.

Die Oberfläche der Agarstichkultur bietet gegen die Agarplatte keinen Unterschied. Vom Stichkanal aus, der deutlich sichtbar ist, dringen flockige Ausstrahlungen in den Agar vor. Nach 2 Tagen sind die einzelnen Aestchen 4—5 mm lang.

Die Gelatineplatte gestaltet sich wesentlich uncharakteristischer als die Agarplatte. Nach 2 Tagen hat sich von der Impfstelle aus bei einer Temperatur von 18—24° eine Kolonie von einem Durchmesser von 3—6 mm gebildet. Die Gelatine ist in einem Umkreise mit einem Radius von 2—5 mm verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine ist getrübt. Die Kolonie stellt sich als schleierartig feines Gebilde dar, an dem am Rande feinste Härchen wahrgenommen werden.

Betrachtet man die Kolonie mit 107-facher Vergrößerung, so erscheint sie durch einzelne, mitunter außerordentlich lange (400—800 μ) regellos angeordnete Bakterienfäden gebildet. Die radiäre Richtung der Fäden ist jedoch vorherrschend. Die Fäden zeigen die verschiedenartigsten Windungen, auch „Spirulinen“ (Hauser) mit 40—60 Windungen finden sich. Der Mittelpunkt der Kolonie, der bei natürlicher Größe als homogener bräunlicher Punkt erscheint, besteht aus einem dichten Gemenge von Bakterienfäden. In 7—8 Tage alten Kulturen treten nur sehr wenige einzelne Aestchen stärker hervor. Die Kolonieen, die auch nach Wochen keinen größeren Durchmesser als 2—3 cm erreichen, schwimmen auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine.

Vom Impfstrich der Gelatinestrichkultur gehen bei einer 3 Tage alten Kultur feine nur schwer zu erkennende Aestchen aus, die auch meist nach unten gebogen sind. Die Gelatine ist erst schwach verflüssigt. Am 5. Tage ist die Gelatine etwa 1 mm tief verflüssigt. In die Tiefe der Gelatine dringen keine Fäden vor.

Bei der Gelatinestichkultur dringen vom Stichkanal aus feine, oben etwas längere, flockige Ausstrahlungen vor, die in jungen Kolonieen horizontal, in älteren schräg nach oben[1]) gerichtet sind. Die Verflüssigung der Gelatine beginnt dadurch, daß der Stichkanal trichterförmig einsinkt; sie dehnt sich an der Oberfläche bis zum Glasrande aus und schreitet dann zylinderförmig langsam in die Tiefe weiter. Nach 8 Tagen ist die verflüssigte, getrübte Schicht 10—12 mm tief. Weiter ist sie dann auch nach Wochen nicht vorgedrungen. An der Oberfläche bildet sich anfänglich eine ziemlich derbe Kahmhaut aus, die aber bald einsinkt, ohne daß sich eine neue bildet. Mikroskopische Präparate der Gelatinekultur zeigen insofern Abweichungen von denen der Agarkulturen, als 1) die einzelnen Individuen etwas kleiner sind, und 2) insofern, als man erst in 14 Tage alten Kulturen Sporen findet.

Die Milchkultur verläuft im allgemeinen, wie es von Lehmann und Neumann für Bacillus mycoides Fl. angegeben ist. Unter schwacher Säurebildung koaguliert die Milch innerhalb 3 Tagen. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen ist das Koagulum peptonisiert bis auf einen kleinen Rest, der auch nach mehreren Wochen noch vorhanden ist. Die Flüssigkeit ist schließlich wieder schwach alkalisch.

Auf Kartoffeln wächst Bac. mycoides α schlecht. Nach 6 Tagen sind 2 qcm der Oberfläche mit einer trockenen, schmutziggrauen, uncharakteristischen Auflagerung bedeckt, deren Rand schwach gelappt erscheint. Die einzelnen Stäbchen enthalten meist Sporen, und zwar oft schon nach 30 Stunden.

In der Nährbouillon hat sich nach 36 Stunden ein starkes weißes Sediment gebildet. Schüttelt man die Flüssigkeit, so steigt die Ablagerung in einzelnen, ziemlich großen Hautstücken (5—8 mm Durchmesser) in die Höhe. Zugleich wird die Flüssigkeit schwach getrübt, ein Zeichen dafür, daß neben den zusammenhängenden Kolonieen auch einzelne Stäbchen oder Fäden im Sediment enthalten sind. Die Häutchen setzen sich sofort wieder ab, und bald ist die Flüssigkeit völlig wieder klar. An der Oberfläche wird kein Häutchen gebildet.

Im luftleeren Raume[2]) vollzieht sich das Wachstum langsamer. Die Kolonie hat nach 6 Tagen erst einen Durchmesser von 5—6 cm. Im übrigen ist kaum ein Unterschied im Wachstum zu bemerken. Obwohl aber die Teilung der Bakterienfäden in einzelne Zellen erfolgt, findet keine Sporenbildung statt.

Für die übrigen Stämme des Bac. mycoides sollen nun in Form kurzer diagnostischer Tabellen die Punkte hervorgehoben werden, durch die sie sich von Bac. mycoides α unterscheiden. Wo nichts Besonderes bemerkt ist, gelten immer alle Angaben von Bac. mycoides α.

Bacillus mycoides β.

Die Sporen sind durchweg größer als die des Stammes α. Ihre Länge schwankt zwischen 1,67 und 1,93 μ, ihre Breite zwischen 0,94 und 1,56 μ. An einem kleinen Teil der reifen Sporen ist hier die Membran der Sporenmutterzelle noch erhalten.

Vor der Keimung schwillt die Spore insbesondere in die Breite an. Nach 15—17 Stunden tritt das Keimstäbchen meist in der Mitte seitlich hervor. Selten findet die Keimung polar statt (Fig. 6). Die

---

[1]) **Zikes** (1903) glaubt, dies auf negativen Geotropismus zurückführen zu können.

[2]) Die Methode vergl. im II. Teil.

Membran der Spore geht bald verloren. Da die Spore vor der Keimung vor allem in die Breite anschwillt, ist man wohl zu dem Schlusse berechtigt, daß das Keimstäbchen von vornherein in der Querrichtung der Spore angelegt wird, und daß bei der polaren Keimung nur eine auf irgendwelchen Zufälligkeiten beruhende Ausnahme hiervon stattfindet. Da sich die Häufigkeitszahlen der beiden Keimungsarten ungefähr wie 6 : 1 verhalten, so kann man sagen: die Sporen keimen im allgemeinen äquatorial.

Mikroskopisches Aussehen: 3,47—4,92 μ lange und 1,2 bis 1,8 μ breite Stäbchen mit abgerundeten Ecken. Die Stäbchen, die Sporen enthalten, sind in der Mitte, wo die Spore liegt, etwas ausgebaucht.

Färbbarkeit: Karbolfuchsin wird in einem so hohen Grade festgehalten, daß eine Entfärbung mit 3-proz. salzsaurem Alkohol nicht erzielt wird.

Agarplatte: Das Keimstäbchen krümmt sich viel früher, als bei Bac. mycoides α, und zwar zu gleicher Zeit in kleineren Bogen nach verschiedenen Seiten, so daß es bald spirillenartig gewunden erscheint. Infolgedessen ist einmal die Verzweigung der Fäden sehr häufig und fernerhin erfolgt das weitere Wachstum eines Fadenendes nur mit einer Geschwindigkeit von 190—240 μ. Denn infolge der Bogenbildung kommt hierfür fast ausschließlich das Wachstum der ersten Zelle in Frage, während es bei dem Stamme α durch das Wachstum der weiter hinten liegenden Zellen vermehrt wurde, da diese ein Fortschieben des ganzen Fadens hervorriefen.

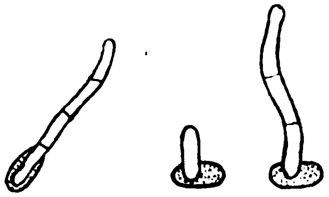


Fig. 6. Keimung des Bacillus mycoides β.

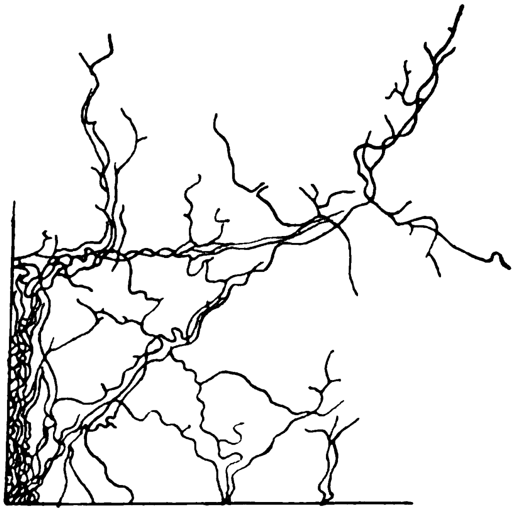


Fig. 7. Randstück der 2 Tage alten Agarplattenkolonie der Bacillus mycoides β.

Das Aussehen der Agarplattenkultur unterscheidet sich insofern von dem des Stammes α, als 1) eine bestimmte Richtung in der Biegung der Aeste nicht vorherrscht, und 2) insofern, als die Aeste mikroskopisch als eine wirre Zusammenlagerung von Bakterienfäden erscheinen. Dies erklärt sich leicht so: Obwohl auch hier ein Faden, sobald er mit seinem Ende an einen zweiten stößt, diesem parallel wächst, trifft man doch selten wirklich parallelliegende Fäden, da sofort Biegungen und Verzweigungen der Fäden eintreten. Das Innere der Kolonie erscheint vollständig verfilzt (Fig. 7).

Agarstrichkultur: In die Tiefe des Agars dringen keine Ausstrahlungen vor. Nur an 4 Monate alten Kulturen kann man mitunter ganz kurze feine Strahlen sehen.

Agarstichkultur: Nach 24 Stunden ist der Stichkanal nur schwach, jedoch bis in die Tiefe sichtbar. Die Ausstrahlungen sind sehr fein. Der ganze Agar scheint durch sie schwach getrübt. Erst nach mehreren Tagen tritt der Stichkanal und auch die Aestchen deutlicher hervor.

Gelatineplattenkultur: Die aufliegende Kolonie hat nach 5 Tagen einen Durchmesser von 8—15 mm. Sie stellt eine graue feine Haut dar, an der in der Mitte keine Aeste und am Rande keine Ausstrahlungen zu erkennen sind. Die innerhalb der Gelatine liegenden Kolonieen unterscheiden sich nur durch ihre geringe Größe von denen, die an der Oberfläche liegen.

Gelatinestrichkultur: Nach 2 Tagen ist der Strich tief eingesunken und die Gelatine stark verflüssigt. Nach 5 Tagen ist die Gelatine vollständig verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Die Verflüssigung schreitet immer trichterförmig vor. Die verflüssigte Gelatine ist äußerst klar. Vom Stichkanal gehen außerordentlich feine, jedoch lange Härchen aus, die immer auch an ganz alten Kulturen horizontal gerichtet sind.

Kartoffelkultur: Ziemlich gutes Wachstum. Nach 3 Tagen sind 10 qcm der Oberfläche mit einem grauweißen der Form nach uncharakteristischen, feuchtglänzenden, am Rande gelappten Ueberzuge bedeckt. Später bilden sich oft schwache Falten.

Bouillonkultur: Nach 36 Stunden hat sich ein weißer, flockiger Niederschlag gebildet, der nach Umschütteln der Kultur in die im übrigen klare Kulturflüssigkeit in kleinen Flocken aufsteigt.

Anaërobe Kultur: Im luftleeren Raume wächst dieser Stamm noch langsamer als Bac. mycoides α. Nach 6 Tagen hat die Kolonie erst einen Durchmesser von 4 cm.

Bacillus mycoides γ.

Die Sporen sind 1,25—1,65 μ lang und 0,58—0,89 μ breit und auch in reifem Zustande fast regelmäßig von der Membran der Sporenmutterzelle umgeben.

Da die Spore verhältnismäßig klein ist, nimmt es nicht wunder, daß sie vor der Keimung ganz bedeutend, und zwar etwa auf das 4—8-fache ihres ursprünglichen Volumens, anschwillt. Das Keimstäbchen tritt nach 14—17 Stunden entweder gerade in der Diagonalrichtung der Spore aus, oder baucht sich kommaförmig an der Seite hervor; die Häufigkeitszahlen der beiden Keimungsarten verhalten sich etwa wie 4:1 (Fig. 8).

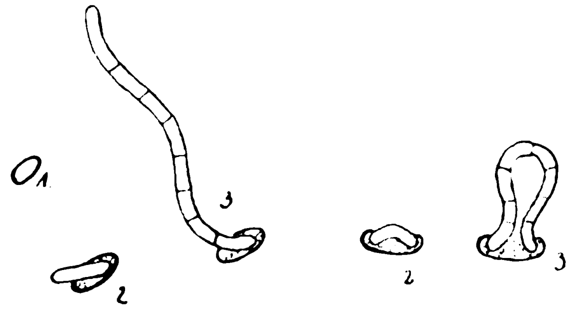


Fig. 8. Keimung des Bacillus mycoides γ.

Mikroskopisches Aussehen: Bei einer Länge von 2,31—4,62 μ sind die Stäbchen 1,2 -2,65 μ breit. Meist sind die Stäbchen zu langen Fäden vereinigt. Es werden jedoch auch häufig einzelne Bakterienzellen oder ganz kurze 2—4-zellige Fädchen beobachtet.

Färbbarkeit: Die Gramsche und die „Säurefestigkeits“-Methode sind anwendbar.

Agarplatte: Die Aeste sind immer verhältnismäßig fein und beliebig gebogen, liegen immer weit auseinander und verlieren, in der Mitte der Kolonie beginnend, allmählich ihre scharfe Ausprägung fast vollständig. Die Kolonie erscheint dann nahezu gleichmäßig (Fig. 9).

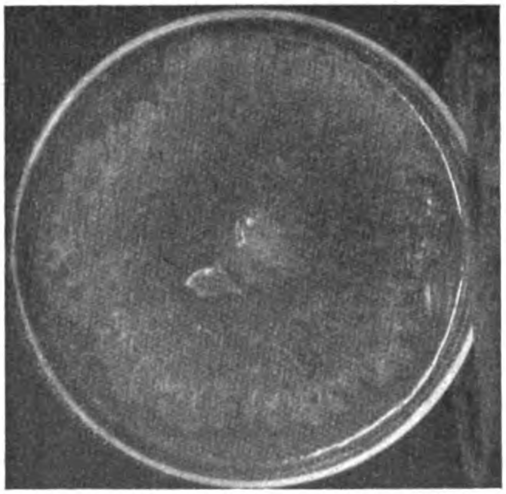


Fig. 9. Bac. mycoides γ. 50 Stunden alte Agarplattenkolonie. $^5/_9$ d. nat. Gr.

Bei 107-facher Vergrößerung kann man die Ursachen für dieses Aussehen der Agarplattenkolonie leicht feststellen. Die einzelnen Fäden neigen zu außerordentlichen Biegungen, die unregelmäßig nach verschiedenen Seiten erfolgen und viel größer sind als bei Bac. mycoides β. Es wird sich dies auf einen festeren Zusammenhang der einzelnen Zellen untereinander erklären lassen (Fig. 10). Hierauf ist wohl auch die seltenere Verzweigung der Fäden zurückzuführen. Da nur wenige Fadenenden entstehen, bleiben dann die Zusammenlagerungen zu Aesten feiner und die Aeste selbst geringer. Da die Bogen immer zunehmen, und dann auch schließlich in derselben Art, wie bei den anderen Formen Verzweigungen auftreten, gehen die Aeste wieder verloren. Etwas vom Rande der Kolonie entfernt findet man meist schöne Lockenbildungen. Die Schnelligkeit des Wachstums der einzelnen Bakterienfäden steht kaum hinter der von Bac. mycoides α zurück.

Agarstrichkultur: Schon am 2. oder 3. Tage dringen Bakterienfäden in feinen Massen in die Tiefe des Agars ein.

Agarstichkultur: Die vom Impfstich ausgehenden Härchen sind sehr fein und stehen in dichten Massen zusammen.

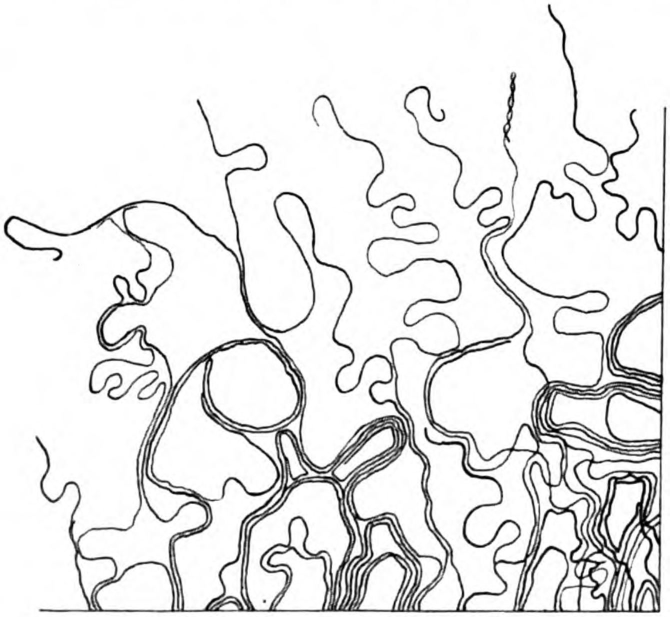


Fig. 10. Randstück der Agarplattenkolonie des Bacillus mycoides γ.

Gelatineplattenkultur: Ein bedeutender Unterschied zeigt sich zwischen den Kolonieen, die an der Oberfläche der Gelatine liegen, und denen, die in ihrem Innern wachsen. Die Kolonieen an der Oberfläche sind sehr klein, verflüssigen die Gelatine und besitzen einen 1—2 mm breiten Lichthof. Die bei natürlicher Größe erkennbare Kolonie erscheint bei 107-facher Vergrößerung als dichtes Bakteriengemenge, von dem aus in den Lichthof einzelne Bakterienfäden radiär ausstrahlen. Diese

Fäden sind meist spirillenartig gebogen. Auch „Spirulinen" wurden häufig gefunden. Die Kolonieen innerhalb der Gelatine kann man erst nach 10 bis 12 Tagen mit unbewaffnetem Auge auf der Platte finden. Von einem homogenen bräunlichen Mittelpunkt (mit einem Durchmesser von 0,3—0,5 mm) gehen unregelmäßig gebogene und verästelte Strahlen aus. Die Kolonie, die sehr an die Agarplatte erinnert, hat nach 15 Tagen einen Durchmesser von 2—5 mm und ist äußerst zart und fein. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Bei 107-facher Vergrößerung zeigt sich dasselbe Bild wie auf der Agarplatte.

Gelatinestrichkultur: In die Tiefe der Gelatine dringen deutlich sichtbar 5 mm lange Härchen ein.

Gelatinestichkultur: Nach 4 Tagen ist der Stichkanal schwach halbkugelig eingesunken. Allmählich dehnt sich dann die Verflüssigung bis zum Glasrande aus und schreitet zylinderförmig in die Tiefe weiter. Die Verflüssigung geht immer nur sehr langsam vor sich. Die verflüssigte Gelatine ist klar. Die Ausstrahlungen sind sehr fein und anfänglich unten kürzer als oben, später jedoch gleich lang und einander parallel immer horizontal gerichtet.

Kartoffelkultur: Die ganze Oberfläche des Kartoffelstückes von 20 qcm ist nach 24 Stunden von einem graubraunen schleimigen Belage überzogen. Später bilden sich starke, netzartig angeordnete Falten aus.

Bouillonkultur: Nach 36 Stunden hat sich eine starke, weiße, wolkige Ablagerung gebildet, die nach dem Umschütteln der Kultur in sehr großen Flocken, fast vollständig zusammenhängend, aufsteigt. Eine Trübung der Flüssigkeit oder eine Hautbildung an der Oberfläche tritt nicht ein.

Im luftleeren Raume findet nur kümmerliches Wachstum statt. Nach 6 Tagen hat die Kultur erst einen Durchmesser von 2 cm. Die Aeste treten nur ganz undeutlich hervor.

Bacillus mycoides δ.

Die Sporen sind 1,73—2,43 μ lang und 0,70—1,22 μ breit und oft noch von der Membran der Sporenmutterzelle umgeben. Die sporentragenden Zellen sind in der Mitte schwach ausgebaucht.

Die Keimung: Man kann dieselben 3 Keimungsarten wie bei Bac. mycoides α beobachten, nur verhalten sich hier die Häufigkeitszahlen für die Keimungsarten ganz anders. Auf 10 Sporen, die polar keimen, zählt man 6, bei denen das Keimstäbchen sich kommaförmig an der Seite hervordrängt, und 1, bei dem das Keimstäbchen an beiden Polen zugleich hervorbricht.

Mikroskopisches Aussehen: Die Stäbchen sind 2,08—4,17 μ lang und 0,87—1,39 μ breit.

Färbbarkeit: Nach der Gramschen und nach der Säurefestigkeitsmethode färbbar.

Agarplattenkultur: Von der Impfstelle breitet sich ein baumartig verästeltes „Mycel" im Kreise aus (Fig. 11). Die Schnelligkeit des Wachstums ist bei diesem Stamm die größte. Sie beträgt in der Stunde bis zu 500 μ. Auffällig an der Platte ist die Anhäufung der Bakterienmassen zu einzelnen Knoten, die meist an Verzweigungsstellen, aber auch an beliebigen anderen Punkten der Aeste liegen. Eine bestimmte Bogenrichtung herrscht nicht vor, obwohl man häufige Bogen nach links hin wahrnehmen kann. Bei 107-facher Vergrößerung erkennt man, daß sich die Knoten in folgender Weise bilden. Ein Bakterienfaden löst sich von seinem Verbande mit der Spitze ab, wächst in größerem oder kleinerem Bogen zu der Stelle, an der er sich losgelöst hat, wieder zurück. Indem er selbst in der entstandenen Schleife sich parallel einige Male im Kreise herumwächst, und indem weitere Bakterienfäden sich anlegen, entsteht eine Bakterienanhäufung, die den Eindruck eines Knotens hervorruft. Am Rande der Kolonie trifft man öfter neben schön spiralig gewundenen Bakterienfäden sehr lange (70—150 μ lange) Spirulinen mit 40—80 Windungen. Die tiefliegende Kolonie erscheint homogen und schleierartig fein (Fig. 12).

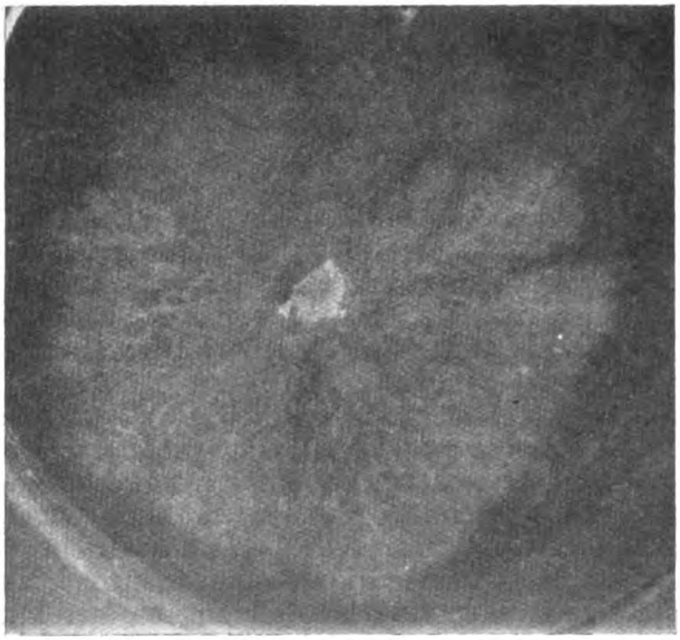


Fig. 11. Bacillus mycoides δ. 4 Tage alte Agarplattenkolonie. $^9/_{10}$ d. nat. Gr.

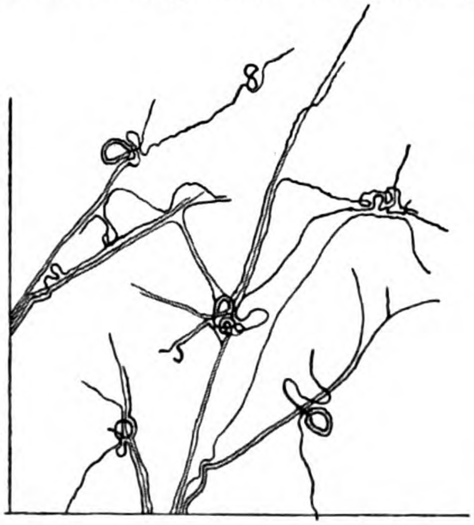


Fig. 12. Randstück der Agarplattenkolonie des Bacillus mycoides δ.

Agarstrichkultur: Nach 24 Stunden ist die ganze Oberfläche fast gleichmäßig überzogen. Die Aeste, die nach 12 Stunden noch ganz deutlich sind, kann man kaum mehr unterscheiden. Ein Eindringen der Bakterienfäden in die Tiefe des Agars findet nicht statt. Dagegen schieben sie sich zwischen das Glas und die Agarmasse hinein.

Agarstichkultur: Vom Stichkanal aus gehen ziemlich derbe, nach 24 Stunden 3—4 mm lange, oben und unten gleichlange, verästelte Strahlen aus.

Gelatineplattenkultur: Die Gelatine wird verhältnismäßig rasch verflüssigt, die häutige Zoogloea besitzt am Rande oft lange unregelmäßige Ausstrahlungen. Mittelpunkt und Aeste treten nie deutlich hervor.

Gelatinestrichkultur: Vom Strich gehen stark verästelte Strahlen auch in die Tiefe der Gelatine aus.

Gelatinestichkultur: Nach 14 Tagen ist die Gelatine in einer Höhe von 0,8—1,2 cm verflüssigt; weiter als 1,8 cm schreitet die Verflüssigung nicht fort. An der Oberfläche der klaren, flüssigen Gelatine hat sich eine derbe Haut entwickelt, die sich zusammenballt und untersinkt, indem sich an der Oberfläche eine neue bildet. So kann man in 3 Wochen alten Kulturen oft schon 3 Häute übereinander finden. Vom Impfstich gehen starke, lange, meist einander parallele Strahlen aus, die anfänglich horizontal, später jedoch schräg nach oben gerichtet sind.

Kartoffelkultur: Genau wie bei Bac. mycoides γ.

Bouillonkultur: Nach 36 Stunden ist die Oberfläche der Nährflüssigkeit von einem schwachen Häutchen überzogen, das leicht abfällt, während am Grunde eine starke, weiße, mycelartige Kolonie abgelagert ist. Diese steigt nach dem Umschütteln der Kultur in ziemlich großen, zusammenhängenden Massen auf, während jenes untersinkt. Die Bouillon bleibt klar.

Im luftleeren Raum: Ziemlich gutes Wachstum, nur wenig geringer als bei Luftzutritt. Sporen werden keine gebildet.

Im Anschluß an die Beschreibung dieser 4 Stämme muß auch eine kurze Beschreibung des von Král in Prag bezogenen Bac. mycoides Flügge angefügt werden, da die Beschreibung Gottheils zu dem nötigen Vergleiche nicht ausreichte. Dabei sei jedoch soweit als möglich den Angaben Gottheils gefolgt. Es werden auch hier nur die Abweichungen von der Form Bac. mycoides α angeführt.

Bacillus mycoides Flügge.

Spore: Sporengröße: 1,4—2,4 μ lang, 0,83—0,91 μ breit. Die Membran der Sporenmutterzelle bleibt ziemlich lange erhalten. Ausgereifte Sporen sind jedoch oft vollständig frei.

Die Keimung erfolgt fast immer polar; ganz selten kommaförmig. Charakteristisch ist die Erscheinung, daß bei der Keimung und oft auch noch nachher an der Sporenmembran die Membran der Sporenmutterzelle festhaftet. Die Teilung des Keimstäbchens in einzelne Zellen findet immer erst 10—15 μ von der Spitze entfernt statt. Dann wird das Keimstäbchen bald unregelmäßig gebogen und gekrümmt.

Färbbarkeit: Gram positiv. Färbung nicht säurefest. Träge Eigenbewegung findet statt.

Agarplattenkolonie: Die Kolonie erweckt den Eindruck eines wurzelartigen Geflechts (Fig. 13). Die Aeste sind jedoch wenig scharf ausgeprägt und zeigen außerordentlich zahlreiche knotenförmige Anschwellungen. Die Ausbreitung der Kolonie findet verhältnismäßig langsam statt. Nach 24 Stunden beträgt der Durchmesser der Kolonie erst 0,7—0,8 cm und nach 14 Tagen erst ist die ganze Platte von 9 cm Durchmesser bedeckt.

Die Entstehung kann man sich aus der, wie sie für Bac. mycoides β und der, wie sie für Bac. mycoides δ angegeben wurde, zusammengesetzt denken, denn einmal tritt die Häufigkeit der Krümmungen der Fäden und damit verbunden die große Zahl der Verzweigungen, wie bei Bac. mycoides β zutage, und dann findet auch, aber bedeutend zahlreicher und stärker wie bei Bac. mycoides δ, die Anhäufung der Bakterien zu knotenartigen Anschwellungen statt.

Agarstrichkultur: Nach 24 Stunden haben sich vom Impfstriche aus starke unregelmäßige Ausläufer gebildet, die nach 36 Stunden fast vollständig wieder verwischt sind. Die Kolonie ist dann rauh, feinrunzelig, feuchtglänzend und grauweiß.

Gelatineplattenkultur: Es tritt ein deutlicher Unterschied zwischen den Kolonieen an der Oberfläche und denen im Inneren der Gelatine hervor. Die tiefliegenden Kolonieen erscheinen zunächst als weiße Trübungen, in denen feine weißliche Fäden von unregelmäßigem, wirrem Verlaufe wahrgenommen werden. Verflüssigung der Gelatine findet hier nicht statt, während durch die Oberflächenkolonie die Gelatine rasch becherartig verflüssigt wird. Von der verflüssigten Gelatine, in der weiße Flöckchen und Fäden schwimmen, gehen kurze Aeste aus. Nach einigen Tagen ist die ganze Gelatine verflüssigt, auf der dann eine zusammenhängende Haut schwimmt.

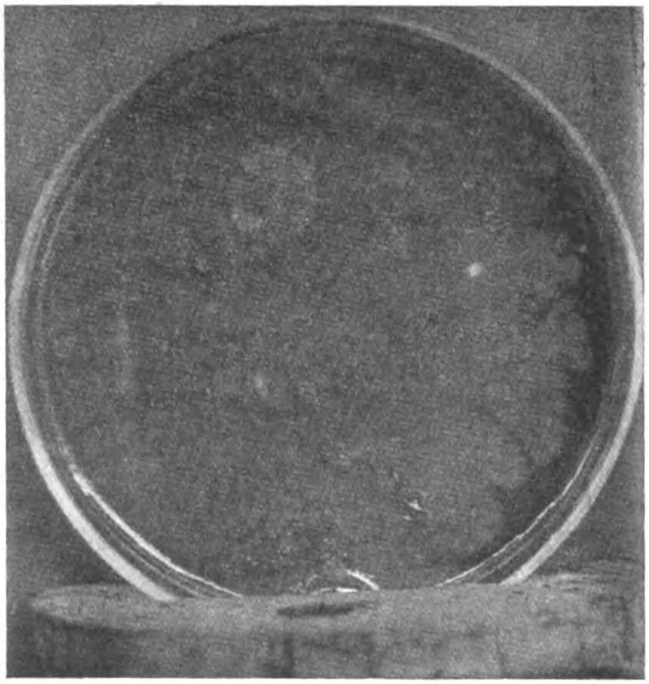


Fig. 13. Bacillus mycoides Flügge. 14 Tage alte Agarplattenkolonie. $^5/_6$ d. nat. Gr.

Gelatinestichkultur: Genau wie bei Bac. mycoides δ, nur bleiben die vom Impfstich ausgehenden Strahlen immer horizontal gerichtet.

Die Kartoffelkultur unterscheidet sich dadurch von allen anderen, daß man nach 10 Tagen an dem Belage einzelne Aeste wahrnehmen kann, die sich auch auf das umgebende Glas erstrecken.

Bouillonkultur: Wie bei Bac. mycoides δ, nur erscheint die Bouillon nach dem Schütteln getrübt und klärt sich nur langsam wieder auf. Das Häutchen an der Oberfläche, wie das Sediment, werden beide aus langen Zellfäden gebildet. Während aber das Sediment keine Sporen enthält, sind diese in den Zellen des Häutchens sehr häufig.

Im luftleeren Raum breitet sich die Kolonie als dichter gleichmäßiger Belag aus, an dem keine Aeste zu erkennen sind. Eine Parallellagerung der Bakterienfäden findet nicht statt. Die einzelnen Fäden sind dagegen sehr stark gekrümmt. Sporen werden keine gebildet.

Bei den Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung des Bac. mycoides und seiner Stämme wurden einige Bakterienarten isoliert, die mit Bac. mycoides sehr nahe verwandt sind, jedoch im Aussehen der Plattenkulturen, was dem Bac. mycoides seinen Namen einbrachte, so sehr von diesem abweichen, daß sie, da auch weitere Unterschiede dafür sprechen, als neue Arten bezeichnet werden müssen. Die Versuche, sie mit bisher schon beschriebenen Arten zu identifizieren, waren völlig erfolglos.

Der Uebersichtlichkeit wegen soll bei der Beschreibung dieser Arten ebenfalls die Form der tabellarischen Anordnung gewählt werden, dabei sollen jedoch die einzelnen Abschnitte so genau als erforderlich behandelt werden.

Aus dem Darm des Frosches (Rana temporaria) wurde eine Form isoliert, der der Name

Bacillus effusus

beigelegt wurde.

Die Sporen sind 1,56—2,34 μ lange und 0,8—1,46 μ breite Stäbchen, liegen meist an einem Polende und in der Richtung der Sporenmutterzelle. An der Stelle, wo die Spore liegt, ist die Sporenmutterzelle ziemlich stark angeschwollen. An ausgereiften Sporen ist sie stets verschwunden.

Keimung: Nach ungefähr 10 Stunden tritt das Keimstäbchen bei einer Temperatur von 30° C an einem Pole aus. Eine Eigenbewegung des Keimstäbchens findet nicht statt. Dagegen sind etwas ältere Stäbchen schwach beweglich. Die Begeißelung ist peritrich.

Mikroskopisches Aussehen: Ziemlich lange und, solange sie keine Sporen enthalten, auch schlanke Stäbchen mit abgerundeten Ecken. Sie sind 4,32—6,42 μ lang und 0,77—0,95 μ breit. Sporentragende Zellen werden bis 2,32 μ breit. Die Stäbchen sind meist zu zweien, selten zu mehreren, zu einem kurzen Faden zusammengelagert. Häufig findet man einzelne Stäbchen. Falsche Verzweigung ist dann natürlich keine wahrzunehmen.

Färbbarkeit: Nach der Gramschen, nicht jedoch nach der Säurefestigkeitsmethode färbbar.

Agarplattenkolonie: Sobald das Keimstäbchen die Spore verlassen hat, wird auch die Sporenmembran abgeworfen und das Keimstäbchen wächst nach beiden Seiten rasch weiter. Bald erfolgt eine Teilung in einzelne Zellen, und der kleine Faden legt sich in die zierlichsten Windungen. Da aber, wie sich besonders ergibt, wenn man etwas Bakterienmaterial auf den Objektträger bringt, die Verbindung der einzelnen Zellen nur eine ziemlich lockere ist, so teilt sich der junge Zellfaden bald in einige Teile, die alle wieder nach zwei Seiten weiterwachsen. An und für sich legt sich auch hier ein Zellfaden, wenn er mit seiner Spitze an einen anderen stößt, diesem parallel dicht an, so daß man oft eine ganze Strecke weit 4—5 Fäden beisammenliegen sieht, die alle fast dieselben Windungen ausführen. Dies trifft man jedoch nur an der ganz jungen Kolonie oder auch am äußersten Rande der älteren. Da jedoch die einzelnen Zellfäden zu frühe zerfallen und infolge der vielen Fadenenden bald jede Zusammenlagerung aufgehoben wird, so kann es natürlich zu einer wirklichen Astbildung, wie bei Bac. mycoides, nicht führen. Daher erscheint auch die Mitte der Agarplattenkolonie, die nach 3 Tagen fast die ganze Platte überzieht, als ein gleichmäßiger, bräunlicher Belag. Und nur am Rande nimmt man 2—3 mm lange, unregelmäßige, verästelte Ausstrahlungen wahr, die sich bei 107-facher Vergrößerung als ein äußerst zierliches Gebilde entpuppen. Da eine wirklich richtige Beschreibung kaum möglich ist, soll die beigefügte Zeichnung an ihre Stelle treten (Fig. 14).

Agarstichkultur: Die Oberfläche ist genau wie bei der Plattenkultur ausgebildet, von der auch die Strichkultur sich nicht wesentlich unterscheidet. Vom Stichkanal, der nur schwach zu erkennen ist, gehen sehr feine, außerordentlich zahlreiche, parallele, horizontal gerichtete Härchen in die Masse des Agars hinein. Die Härchen sind unten kürzer als oben und in der Mitte am längsten.

Gelatineplattenkultur: Nach 24 Stunden ist die Gelatine durch die einzelnen Kolonieen becherförmig verflüssigt. Auf der Flüssigkeit schwimmt eine dünne graue Haut, deren Rand erst bei 107-facher Vergrößerung sich als schwach gefranst erweist. Das Aussehen der Platte bietet nichts Charakteristisches. Nach 48 Stunden ist die gesamte Gelatine verflüssigt.

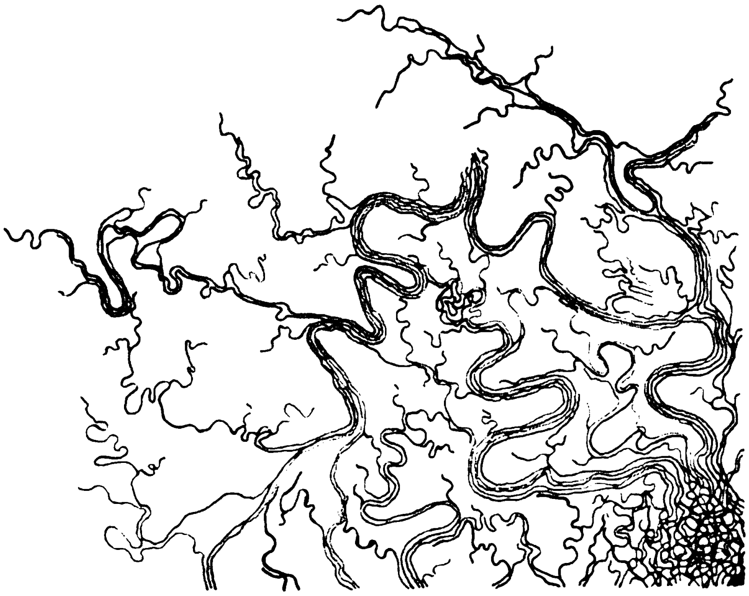


Fig. 14. Randstück der Agarplattenkolonie des Bacillus effusus.

Gelatinestrichkultur: Auf der Oberfläche der nach 24 Stunden stark verflüssigten Gelatine schwimmt eine zarte Haut. In die nicht verflüssigte Gelatine dringen feine kurze Strahlen ein.

Gelatinestichkultur: Die Gelatine wird zylinderförmig verflüssigt. An der Oberfläche der trüben Flüssigkeit hat sich nach zwei Tagen eine dünne Haut gebildet, die nach schwachem Schütteln untersinkt. Am folgenden Tage ist die Oberfläche wieder von einer neuen Haut bedeckt, so daß man nun zwei Häute übereinander liegen sieht. Vom Impfstich aus, der bis in die Tiefe von 4 cm deutlich als dünner Schlauch sichtbar ist, gehen nur vom obersten Teile einige wenige nadelförmige Strahlen aus. Im übrigen erscheint der ganze Stichkanal zart gefranst.

Kartoffelkultur: Auf Kartoffeln findet nur schlechtes Wachstum statt. Nach vier Tagen ist erst eine Fläche von 1,5 qcm mit einer schmutziggrauen Masse bedeckt, deren Rand schwach, unregelmäßig gelappt ist. Schon nach zwei Tagen enthalten die meisten Bakterienzellen, die zum weitaus größten Teil einzeln sind, Sporen.

Milchkultur: Nach zwei Tagen ist die Milch unter Säurebildung koaguliert. Das Koagulum wird allmählich wieder peptonisiert, indem sich ziemlich kräftig Alkali bildet.

Bouillonkultur: An der Oberfläche hat sich nach zwei Tagen ein sehr dünnes, zartes Häutchen gebildet, das durch Schütteln rasch zum Abfallen gebracht werden kann. Es bildet sich jedoch dann keine neue Haut. Am Boden hat sich ein starkes, weißes, flockiges Sediment abgelagert, das nach dem Schütteln in einzelnen größeren Stückchen aufsteigt. Die Bouillon ist schwach getrübt. Das Sediment besteht aus sehr langen Fäden, deren Zellen jedoch auch in älteren Kulturen keine Sporen enthalten.

Im luftleeren Raume findet nur äußerst kümmerliches Wachstum statt. Nach sechs Tagen hat die Kolonie, die aus einem gleichmäßigen, sehr dünnen, am Rande gefransten Belag besteht, einen Durchmesser von 0,4 cm. Sporen werden keine gebildet.

Eine weitere mit Bacillus mycoides verwandte, mit Bacillus effusus in vielem übereinstimmende Art wurde aus verwittertem Naturboden aus dem Kraichgau, ferner aus dem Darme des Goldfisches und dem des Frosches isoliert. Ursprünglich waren die drei Stämme in einzelnen Punkten verschieden. Als sie aber unter häufigem Umimpfen einige Wochen lang kultiviert waren, stimmten sie völlig miteinander überein. Es konnten hier also die drei Stämme leicht aufeinander zurückgeführt werden, während dies bei den Stämmen des Bacillus mycoides nicht der Fall war. Es muß daher eine bestimmte Variationsfähigkeit dieser Art, die

Bacillus olfactorius

genannt wurde, angenommen werden. Damit nun die Beschreibung bei einer solchen Art möglichst genau wird, müssen die Variationen soweit als möglich angegeben werden. Dazu ist es aber durchaus nicht nötig, wie es Gottheil tut, für die „Abarten“ eine besondere Beschreibung zu geben. Es würde dies nur richtig sein, wenn der umgekehrte Fall vorläge, wenn nämlich aus einer Form durch längere verschiedene Kulturmethoden mehrere Abarten mit bleibenden Eigenschaften erhalten würden. Für den vorliegenden Fall wird es vollauf genügen, die abweichenden Verhältnisse bei der Beschreibung der eigentlichen Form anzugeben.

Die Sporen sind kleine Stäbchen von einer Länge von 1,56—1,8 μ und einer Breite von 0,72—1,23 μ, liegen in der Mitte und in der Richtung der Sporenmutterzelle, die an dieser Stelle schwach angeschwollen ist. Ausgereifte Sporen sind oft noch mit der Sporenmutterzelle umgeben. Die Sporenmembran erscheint an den Polen dicker als an den Seiten.

Die Keimung findet nach zwei Tagen statt. Nachdem die Spore stark angeschwollen ist, springt entweder die Membran an einer Seite auf, und das Keimstäbchen tritt, kommaförmig gekrümmt, hervor, oder

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

aber sie springt in der Aequatorialebene ringsherum ab, und das Keimstäbchen streckt sich in die Länge, indem es an jeder Spitze eine Hälfte der Sporenmembran, als Kappe übergestülpt, vorwärtsschiebt (Fig. 15). Da die Sporenmembran an den Polen stärker ist, sind diese beiden Keimungsarten leicht zu erklären. Der Druck, den das in gleicher Richtung mit der Spore in deren Innerm angelegte Keimstäbchen auf die Pole der Sporenmembran ausübt, reicht nicht aus, die Membran hier zu durchbrechen. Der Widerstand, den die Membran entgegensetzt, ist so groß, daß, wenn nicht eine Krümmung des Keimstäbchens erfolgt, die Membran in der Aequatorialebene, wo sie am dünnsten ist, abreißt. Ist aber die Krümmung erfolgt, so wird auf die Sporenmembran nun ein einseitiger Druck in der Aequatorialebene ausgeübt, und es ist ganz natürlich, daß sie an einer Seite aufspringt. Das Absprengen erfordert eine ziemlich bedeutende Kraft, daher wird das Keimstäbchen sich im allgemeinen biegen. Die Häufigkeitszahlen der beiden Keimungsarten verhalten sich wie 5:1. Man wird daher sagen: die Keimung findet im allgemeinen „kommaförmig“ statt.

Mikroskopisches Aussehen: Die Stäbchen haben abgerundete Ecken, sind 3,2—5,5 μ lang und 1,25—1,82 μ breit. Eine Bewegung der Stäbchen wurde bei keiner Entwickelungsstufe beobachtet; ebenso fielen auch Geißelfärbungsversuche negativ aus. Die Zellen erscheinen auf der Agarplatte zu sehr langen Fäden verbunden. Im mikroskopischen Präparate sind sie jedoch nur zu ganz kurzen vereinigt. Es zeigt dies, daß der Zusammenhang der einzelnen Zellen nur lose ist. Falsche Verzweigungen der Zellfäden findet man nur selten.

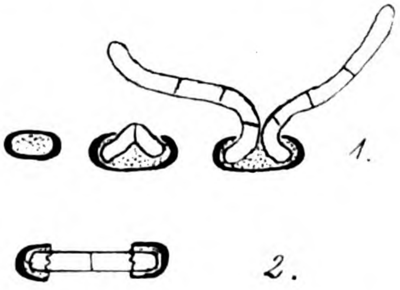


Fig. 15. Keimung des Bacillus olfactorius.

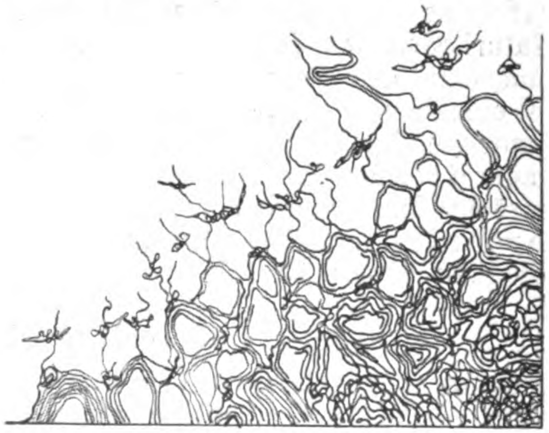


Fig. 16. Randstück der Agarplattenkolonie des Bacillus olfactorius.

Färbbarkeit: Die Gramsche Färbemethode ist anwendbar, die Säurefestigkeitsmethode dagegen nicht.

Agarplattenkolonie: Nach 24 Stunden hat die Kolonie als gleichmäßiger, dünner, graumatter Belag, der nur am Rande kurze Ausstrahlungen aufweist, oft schon einen Durchmesser von 5—6 cm. Bei 107-facher Vergrößerung erscheinen die Ausstrahlungen am Rande als einzelne knotige Bakterienfäden. Die Bildung der Kolonie vollzieht sich in der folgenden Weise: Zwei Bakterienfäden kreuzen sich oder stoßen mit ihren Knoten eng zusammen (Fig. 16). Dadurch wird gegen die Mitte der Kolonie ein Flächenstück ringsum abgegrenzt. Die Bakterienfäden, die irgendwie in diesem Ringe endigen, legen sich parallel dem Ringe an und wachsen im Kreise herum. Auf diese Weise entstehen schöne Locken. Da aber das Wachstum weitergeht, so ist bald das ganze Flächenstück gleichmäßig, anfänglich von einander parallel verlaufenden Bakterienfäden bedeckt. Durch die Krümmung der einzelnen Fäden und durch das Hinzutreten neuer Bakterienfäden geht bald jede parallele und überhaupt gesetzmäßige Anordnung verloren (Fig. 17). Es entsteht ein regelloses Bakteriengemenge, wie man es im ganzen Innern der Kolonie findet.

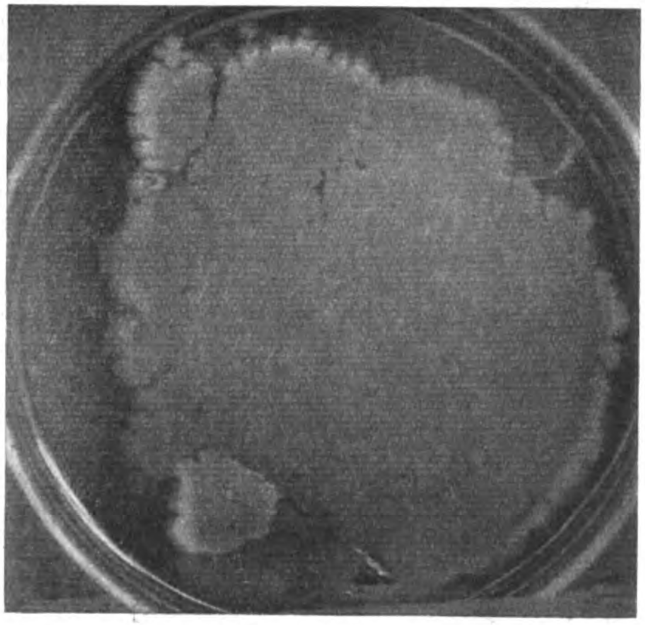


Fig. 17. Bacillus olfactorius. 3 Tage alte Agarplattenkolonie. $^5/_6$ d. nat. Gr.

Bei der einen Abart, der aus der Erde isolierten, waren die Ausstrahlungen verhältnismäßig sehr groß, so daß die Agarplatte in gewisser Beziehung Aehnlichkeit mit der des Bacillus mycoides erlangte. Die beigegebene Figur wird dies am besten veranschaulichen (Fig. 18). Die Größe der Aeste nahm von Kultur zu Kultur ab und wurde nie mehr in derselben Weise wie in der ersten Kultur erhalten.

Bei der zweiten Abart trat eine hübsche Anordnung in einzelnen Zonen auf, die durch dichtere und dünnere Bakterienmassen gebildet wurden (Fig. 19). Obwohl auch sie sich allmählich verlor, trat sie doch bisweilen, auch an den anderen Stämmen, am Rande wieder auf. Sie hängt von den Temperaturschwankungen ab.

Agarstrichkultur: Nach zwei Tagen ist fast die ganze Oberfläche mit einem mattgrauen gleichmäßigen Belag überzogen, dessen Rand schwach, unregelmäßig gelappt erscheint.

Agarstichkultur: Längs des Stichkanals, der nur schwach

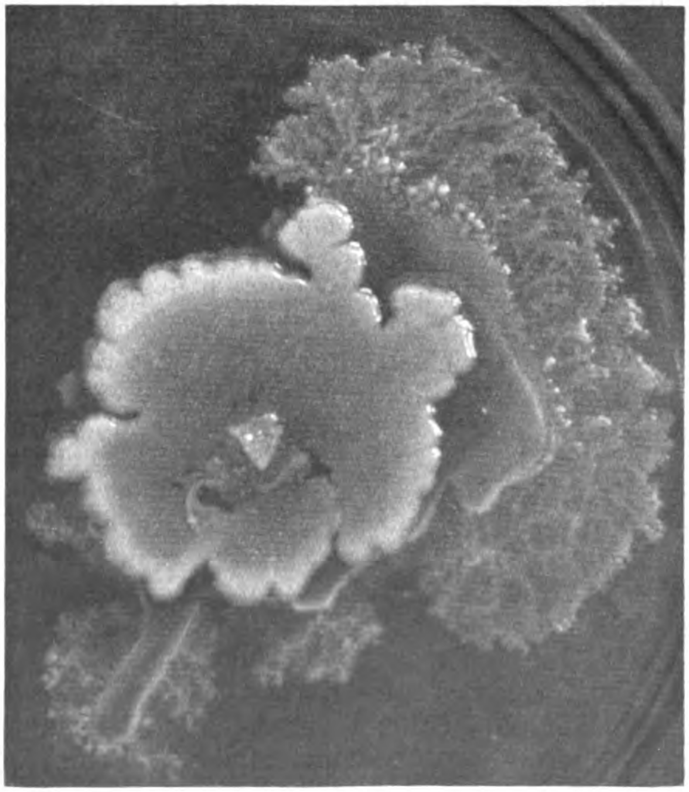


Fig. 18. Bacillus olfactorius. Erste Abart. $^{10}/_9$ d. nat. Gr.

hervortritt, bemerkt man sehr kurze, horizontal gerichtete Ausstrahlungen.

Gelatineplattenkultur: Die Gelatine wird (Temperatur 22 bis 26° C) bei allen Gelatinekulturen sehr rasch verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine ist getrübt. Bei der Gelatineplatte sind die verflüssigten Teile nach 24 Stunden becherförmig. Auf der Flüssigkeit schwimmt eine dünne Kahmhaut, die am Rande schwach gefranst erscheint. Nach 48 Stunden ist die gesamte Gelatine verflüssigt. Die Bakterienmassen schwimmen in kleineren oder größeren Stückchen auf der Flüssigkeit. Der Rand der einzelnen Kolonieen zeigt bei 107-facher Vergrößerung kurze unregelmäßige Strahlen.

Gelatinestichkultur: Die Verflüssigung der Gelatine beginnt, indem der Stichkanal trichterförmig einsinkt, und schreitet dann immer trichterförmig weiter, bis nach ungefähr acht Tagen die ganze Gelatinesäule von 4—5 cm Höhe verflüssigt ist. An der Oberfläche bildet sich innerhalb eines Tages eine ziemlich dicke Haut, die sich bald zusammenballt und untersinkt. Dafür entsteht aber an der Oberfläche sofort eine neue. Am dritten Tage kann man meist schon drei Häutchen untereinander liegen sehen. Der Stichkanal ist durch flockig angehäufte Bakterienmassen bis in die Tiefe leicht zu erkennen. Seiner ganzen Länge nach ist er so mit einer ungefähr 1 mm breiten Zone umgeben, die durch äußerst feine Härchen getrübt erscheint.

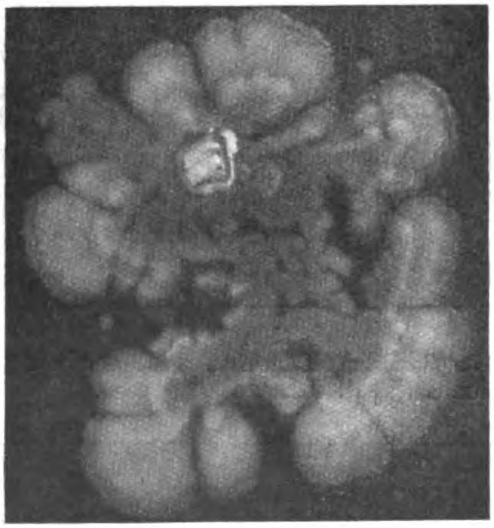


Fig. 19. Bacillus olfactorius. Zweite Abart. $^{10}/_{9}$ d. nat. Gr.

Milchkultur: Die Milch wird peptonisiert, ohne daß sie vorher geronnen war. Dabei wird keine Säure, aber ziemlich stark Alkali gebildet.

Kartoffelkultur: Nach 8 Tagen sind 10 qcm der Kartoffel mit einem graubraunen oder etwas gelblichen, schleimigen Belage bedeckt. Falten bilden sich auch an älteren Kulturen keine. Die zweite Abart zeigte zunächst nur sehr schwaches Wachstum auf der Kartoffel und bildete einen trockenen, grauen, gelappten Ueberzug.

Bouillonkultur: Die ganze Flüssigkeit ist nach 2 Tagen schwach getrübt. Am Boden des Kulturgefäßes hat sich eine feine weiße Ablagerung gebildet, die nach dem Umschütteln sich in der Bouillon gleichmäßig verteilt und diese stärker trübt. Die Flüssigkeit klärt sich nur sehr langsam wieder etwas auf. Da wo die Oberfläche der Bouillon an das Glas anstößt, hat sich ein weißer Rand gebildet. Eine Hautbildung an der Oberfläche ist nicht wahrzunehmen.

Im luftleeren Raum wird die Kolonie nach 6 Tagen von einem gleichmäßigen dichten Belag gebildet, der einen Durchmesser von 0,6 cm hat. Sporen werden keine gebildet.

Schließlich wurde noch eine dritte Bakterienart gefunden, die mit Bac. mycoides nahe verwandt und durch die geringe Ausdehnung

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ihrer Kolonie auf der Agarplatte ausgebildet ist. Sie konnte sowohl aus Kulturerde, als auch aus dem Darme des Goldfisches und dem des Frosches isoliert werden. Die 3 Stämme waren von Anfang an einander völlig gleich. Benannt wurde die Art

Bacillus nanus.

Die Sporen liegen meist in der Mitte ihrer Mutterzelle, oft jedoch auch an einem Polende. In ausgereiftem Zustande sind sie immer von der Sporenmutterzelle frei. Sie sind 1,56—2,23 μ lang und 0,52—0,94 μ breit und haben ellipsoide Gestalt. Die Membran ist an den Polen verhältnismäßig dünn, während sie sonst ziemlich dick ist.

Keimung: Nach 10—12 Stunden tritt im Nähragar bei 25—28° C das Keimstäbchen an einem Pole aus, selten auch an beiden Polen gleichzeitig. Da die Sporenmembran an den Polen am dünnsten, also für den Austritt des Keimstäbchens vorgezeichnet ist, sind auch nur diese beiden Keimungsarten zu erwarten. Die Häufigkeitszahlen verhalten sich wie 8:1.

Mikroskopisches Aussehen: Die Bakterienstäbchen haben abgerundete Ecken, sind 3,12—5,31 μ lang und 0,72—1,43 μ breit. In den Präparaten findet man die Zellen meist zu Fäden von 10—15 Zellen verbunden, wenn die Bakterien einer Agarkultur entnommen sind, während die Präparate, die aus Gelatinematerial angefertigt werden, meist nur 2 oder 3 Stäbchen zusammen zeigen. Daraus folgt, daß die längeren Fäden, wie man sie in den Plattenkulturen vorfindet, leicht in einzelne Stücke zerfallen, und zwar bei dem Material, das auf Gelatine gewachsen ist, leichter als bei dem, das einer Agarkultur entnommen ist. Die abgerundeten Ecken der Stäbchen zeigen auch schon an, daß der Zusammenhang der einzelnen Zellen nur lose ist. Falsche Verzweigungen werden daher in mikroskopischen Präparaten nur selten angetroffen.

Die Bakterien zeigen, solange sie einzeln sind oder nur zu wenigen miteinander zusammenhängen, auf nicht zu alter Entwicklungsstufe geringe Eigenbewegung. Die Begeißelung ist peritrich.

Färbbarkeit: Bac. nanus ist nach der Gramschen Methode nicht färbbar, nach der Säurefestigkeitsmethode dann selbstverständlich auch nicht.

Agarplattenkultur: Gegenüber dem Bac. mycoides fällt es zunächst auf, daß die Kolonie immer nur eine verhältnismäßig geringe Ausdehnung besitzt. Auf einer Platte, auf der zahlreiche Kolonieen entstehen, hat die einzelne Kolonie nie einen größeren Durchmesser als 5 mm. Dabei liegen die einzelnen Kolonieen noch soweit voneinander entfernt, daß Platzmangel nicht der Hinderungsgrund für die Ausbreitung sein kann. Selbst wenn die Kolonie die ganze Platte zur Verfügung hat, nimmt sie nur eine verhältnismäßig geringe Ausdehnung an. Es tritt nur äußerst langsam eine Vergrößerung ein, bis die Kolonie nach 3—4 Wochen einen Durchmesser von ungefähr 2—3 cm hat. Ein weiteres Wachstum findet dann nicht mehr statt. Jedenfalls sind die von den Bakterien ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte hieran schuld. Denn bringt man mit der Impfnadel einige Bakterien vom Rande der Kolonie, wo noch keine Sporenbildung eingetreten ist, auf eine noch unbedeckte Stelle derselben Agarplatte, so findet sofort wieder Wachstum statt. Die Mitte der Kolonie wird durch einen bräunlichen, gleichmäßigen, feuchtglänzenden Belag gebildet, der am Rande ganz kurze Aestchen besitzt

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Fig. 20). Diese werden auch bei den größten Kolonieen nie länger als 2—3 mm und werden durch wirre Zusammenlagerung von einzelnen Bakterienfäden gebildet. Ihre Entstehung vollzieht sich in derselben Weise wie es früher schon bei den einzelnen Stämmen des Bac. mycoides ausführlich geschildert wurde.

Agarstrichkultur: Eine 2 Tage alte Kultur hat ein körniges Aussehen, das dadurch zustande kommt, daß die einzelnen Kolonieen, die nur klein bleiben, sich noch voneinander abgrenzen. Schließlich verschmelzen sie im Innern mehr und mehr, aber der Rand der ganzen Kultur behält sein Aussehen. Hier kann man nach 14 Tagen noch die einzelnen Kolonieen erkennen, die am Rande schwach gefranst sind.

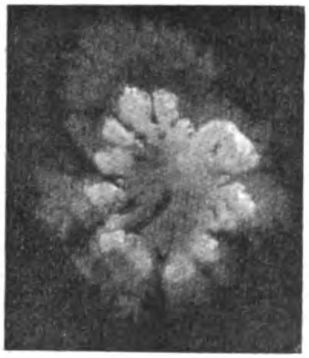


Fig. 20. Bacillus nanus. 14 Tage alte Agarplattenkolonie. $^5/_3$ d. nat. Gr.

Agarstichkultur: Der Stichkanal ist nach 2 Tagen nur schwer zu erkennen. Die Bakterien haben sich nur in ganz geringem Maße entwickelt. Ausstrahlungen sind natürlich dann keine wahrnehmbar. Nach 8 Tagen ist der Stichkanal völlig unsichtbar.

Gelatineplattenkultur: Die Gelatine wird von Bac. nanus sehr stark verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine ist immer schwach getrübt.

Auf der Platte hat der von einer einzigen Kolonie verflüssigte Teil nach einem Tag die Form einer flachen Schale. Auf der Flüssigkeit schwimmt eine kleine graue Haut, an deren Rand man bei Vergrößerung unregelmäßige Fäden erkennt. Nach 48 Stunden ist die gesamte Gelatine verflüssigt.

Gelatinestrichkultur: Ueber die ganze Oberfläche ist nach 24 Stunden eine Haut gebreitet, die durch schwaches Schütteln leicht zum Untersinken gebracht werden kann. Es bildet sich dann an der Oberfläche eine neue.

Gelatinestichkultur: Nach 24 Stunden ist der Stichkanal trichterförmig erweitert und mit verflüssigter Gelatine erfüllt. Die Verflüssigung schreitet immer trichterförmig weiter. In der Flüssigkeit schwimmt die Bakterienmasse in einzelnen Flocken. Nur in der Tiefe, wo noch keine Verflüssigung eingetreten ist, ist der Stichkanal noch undeutlich sichtbar. Hier kann man auch mitunter sehr kurze Strahlen wahrnehmen. An der Oberfläche bildet sich eine Haut, die bald abfällt, indem sich wieder eine neue bildet.

Kartoffelkultur: Bac. nanus wächst auf Kartoffeln sehr schlecht. Nach 3 Tagen ist eine Fläche von ungefähr 1 qcm mit einem gelappten, schmutzigen, trockenen Belage bedeckt.

Milchkultur: Die Milch koaguliert unter schwacher Säurebildung innerhalb 4 Tagen. Das Koagulum wird langsam wieder peptonisiert. Nach 14 Tagen realisiert die Flüssigkeit stark alkalisch.

Bouillonkultur: Die ganze Nährlösung wird schwach getrübt. An der Oberfläche bildet sich eine dünne Haut, die bald untersinkt, indem sich an ihrer Stelle eine neue entwickelt. Ein weißes Sediment steigt nach dem Schütteln des Kulturgefäßes in sehr kleinen Stückcken (Flocken) auf. Zugleich wird die Flüssigkeit stärker getrübt. Die verhältnismäßig kurzen Zellfäden enthalten meist in allen Fällen nach 2 bis 3 Tagen schon Sporen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Im luftleeren Raume findet verhältnismäßig gutes Wachstum statt. Ein dichter gleichmäßiger, glanzrandiger Belag von 0,8 cm Durchmesser bedeckt nach 6 Tagen die Agarfläche. Keine Sporen.

Bei den fünf Stämmen des **Bac. mycoides** wie bei den drei andern hier beschriebenen Bakterienarten ist die Agarplattenkolonie meist dadurch ausgezeichnet, daß durch Zusammenlagerung einzelner meist langer Bakterienfäden stärkere Anhäufungen, „Aeste", entstehen, die den Kolonieen der Stämme des **Bac. mycoides** das Aussehen eines Pilzmycels verleihen und die bei den drei übrigen Formen am Rande der Kolonieen als längere oder kürzere Strahlen erscheinen.

Aehnliche Aeste können bei Bakterien auch auf andere Weise auf der Agarplatte gebildet werden. Es soll dies an einer aus dem Froschdarme isolierten Form gezeigt werden, die

Bac. dendroides

genannt wurde. Die Art gehört ebenfalls zu den sporenbildenden Formen.

Die Sporen sind kleine zylindrische Stäbchen mit scharfen Kanten. Ihre Membran ist an den Längsseiten dicker als an den kurzen. Sie sind 1,15—1,68 μ lang und 0,6—0,8 μ breit, liegen meist in der Mitte ihrer Mutterzelle, oft jedoch auch an einem Polende. Im reifen Zustande sind sie immer von der Mutterzelle befreit.

Die **Keimung** beginnt, indem die Spore zu einem Stäbchen anschwillt, das ungefähr die Größe einer Bakterienzelle dieser Form hat. Bei einer Temperatur von 28—30° C tritt dann im Nähragar nach 12 bis 14 Stunden das Keimstäbchen an einem Pole aus. Oft schien es auch, als ob die Spore nach der Anschwellung weiter wüchse und sich teile, ohne daß eine Sporenmembran abgeworfen wurde.

Nach der Keimung beginnt sofort ein lebhaftes Schwärmen des Keimstäbchens. Die Fähigkeit zur Eigenbewegung bleibt sehr lange erhalten; auch sporentragende Zellen schwärmen noch. Die Begeißelung ist peritrich.

Mikroskopisches Aussehen: Die 2,32—3,21 μ langen und 0,75—1,21 μ breiten Stäbchen mit scharfen Ecken sind meist einzeln, finden sich jedoch auch zu mehreren (bis 6) zu einem kurzen Faden vereinigt.

Färbbarkeit: **Bac. dendroides** ist nach der **Gram**schen, nicht aber nach der Säurefestigkeitsmethode färbbar.

Agarplattenkultur: Bringt man in der früher angegebenen Weise einige Sporen oder auch junge Bakterien in die Mitte einer frisch gegossenen Agarplatte, so breiten sich die Bakterien infolge ihrer Eigenbewegung im Kondenswasser ziemlich rasch über eine große Fläche aus. Nach 24 Stunden ist die Mitte der Platte von einem schleierartig feinen, matten Belage überzogen, dessen Rand auch unter dem Mikroskope noch völlig gerade erscheint. Da nun aber auch das Kondenswasser verdunstet ist, so kann eine Fortbewegung der Bakterien mittels ihrer Geißeln nicht mehr stattfinden. Und nun vollzieht sich das Merkwürdige, daß die Bakterien in Gruppen an einzelnen Stellen sich an der Oberfläche weiterarbeiten. Es entstehen auf diese Weise bis zu 2 mm breite Ausstrahlungen, die mehrere Zentimeter lang werden und sich wiederholt verzweigen können. Von dem zierlichen Bild, das dadurch gebildet wird, mag die beigefügte Aufnahme eine Vorstellung geben (Fig. 21).

Will man das anfängliche Ausschwärmen der Bakterien verhindern,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

so hat man nur ältere, seit einigen Tagen gegossene Agarplatten zu verwenden[1]).

Agarstrichkultur: Das Aussehen der Strichkultur hängt vollständig von der Anwesenheit und der Menge des Kondenswassers ab. So kann man Kulturen erhalten, bei denen die Oberfläche ganz gleichmäßig mit einem dickeren oder dünneren Belage überzogen ist. Andererseits erhält man aber auch Kulturen, bei denen vom Impfstriche aus schöne Aeste ausgehen. Dazwischen finden sich alle Uebergänge.

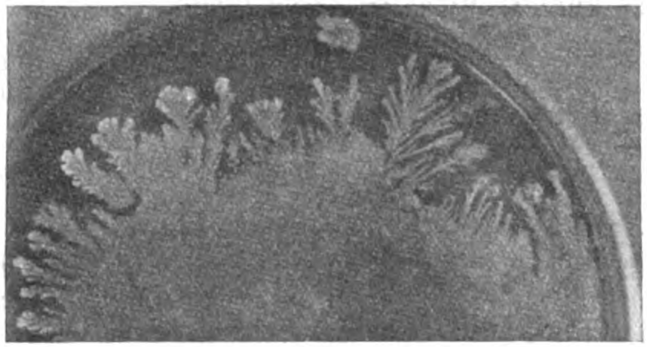


Fig. 21. Bacillus dendroides. 3 Tage alte Agarplattenkolonie. $^5/_6$ d. nat. Gr.

Agarstichkultur: Der Stichkanal ist nur schwer zu erkennen. Er dehnt sich schlauchförmig bis in die Tiefe aus und hat lappenartige Auswüchse. Für die Oberfläche gilt das eben für die Strichkultur Gesagte.

Gelatineplattenkultur: Die einzelnen Kolonieen erscheinen als schwache Trübungen und haben nach 24 Stunden die Gelatine becherförmig verflüssigt. Die Bakterien sind meist einzeln und stark beweglich. Die Schnelligkeit der Bewegung hängt außerordentlich vom Alter der Kultur ab. Ueberhaupt schwankt sie so sehr, daß es nutzlos wäre, irgendwelche Zahlen dafür anzugeben.

Gelatinestrichkultur: Nach 3 Tagen ist die Gelatine 2—3 mm tief verflüssigt. An der Oberfläche schwimmt eine zarte Haut.

Gelatinestichkultur: Verhältnismäßig geringe, immer zylinderförmig weiterschreitende Verflüssigung der Gelatine. In 3 Tagen wird diese nur 3 mm tief verflüssigt. Der Stichkanal leuchtet undeutlich durch die Gelatine. Es findet hier nur geringes Wachstum statt. An der Oberfläche hat sich eine starke Haut gebildet.

Kartoffelkultur: Nach 3 Tagen ist fast die ganze Oberfläche von 15 qcm mit einem schleimigen bräunlichen Belage überzogen, an dem schwache Falten sich bilden. Der Rand ist gelappt.

Milchkultur: Die Milch wird zuerst koaguliert, und dann das Koagulum wieder peptonisiert.

Bouillonkultur: Die ganze Flüssigkeit ist nach 2 Tagen getrübt. Am Rande des Kulturgefäßes hat sich eine weiße feine Ablagerung gebildet, die nach dem Umschütteln der Kultur sich gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt und diese stärker trübt. Nur langsam klärt sie sich wieder auf. Die meisten Zellen enthalten nach 3 Tagen Sporen.

Im luftleeren Raume findet nur sehr geringes Wachstum statt. Nach 6 Tagen wird die Kolonie von einer braunen Haut mit radiär ver-

---

[1]) In diesem Falle tritt eine gewisse Aehnlichkeit mit der Agarplattenkolonie des Bacterium coli commune ein.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

laufenden Falten gebildet. Sie hat einen Durchmesser von 0,7 cm. Ihr Rand weist irgendwelche Lappen oder Aeste nicht auf. Der weitaus größte Teil der Zellen enthält wohlausgebildete Sporen, die auf frischem Nährboden sehr gut auskeimen.

III. Physiologischer Teil.

Im ersten Teile der Arbeit, bei der Beschreibung der einzelnen Bakterienarten, wurde das größte Gewicht auf ihre Entwickelung und die Entstehung ihrer Kolonie auf der Agarplatte gelegt, und zwar deshalb, weil hier alle Formen das eigentümlichste Aussehen haben.

Dieser Umstand legt die Frage nahe: Wie wird die Entwickelung und die Form dieser Kolonieen durch äußere Bedingungen beeinflußt? Die Beantwortung dieser Frage hat ein um so größeres Interesse, als die Agarplattenkolonieen der hier zu betrachtenden Arten für Bakterien eine besonders auffallende Form annehmen.

Es wurden Untersuchungen angestellt über:

1) den Einfluß der Ernährung,
2) den Einfluß des Lichtes,
3) den Einfluß der Wärme und
4) den Einfluß des Sauerstoffes.

Dementsprechend ist denn auch die Einteilung dieses Teiles der Arbeit erfolgt. Die Beobachtung der Einwirkungen wurde in der Weise vorgenommen, daß jeweils

a) die Keimung,
b) das Wachstum,
c) die Sporenbildung

genau verfolgt wurde. Danach ergab sich eine weitere Gliederung der einzelnen Abschnitte in natürlicher Weise.

Alle Untersuchungen wurden, wo nichts anderes angegeben ist, als Reinkulturen in Petri-Schalen auf Agar bei einer Temperatur von 30° C und bei neutraler bis schwach alkalischer Reaktion des Nährbodens ausgeführt. Die Neutralisation geschah durch Zusatz von Soda.

1. Einfluß der Ernährung.

Schon bei der Beschreibung konnte auf die Unterschiede aufmerksam gemacht werden, wie sie sich bei Agar-, Gelatine- und Flüssigkeitskulturen, d. h. bei Veränderung der Konsistenz des Nährbodens, zeigen.

Bei den dort angestellten Versuchen fiel es weiterhin schon auf, daß sich das Wachstum mit der Konzentration der Nährlösung ändert. Mehr oder weniger konzentrierte Nährlösungen können, solange sie nicht so sehr verdünnt sind, daß Nahrungsmangel eintritt, nur insofern auf das Wachstum Einfluß haben, als er durch ihre osmotischen Wirkungen bedingt wird. Es soll daher zunächst festgestellt werden, wie die Entwickelung von der osmotischen Wirkung des Nährbodens abhängt, und zwar soll insbesondere der Einfluß auf die Bildung der Agarplattenkolonie betrachtet werden.

Die Konzentration und damit die osmotische Wirkung kann man natürlich am einfachsten ändern durch Verringerung oder Vermehrung der dem Agar zugesetzten Nährstoffe. Um jedoch einen Einfluß, der durch Nahrungsmangel ausgeübt werden könnte, möglichst auszuschalten, wurde die osmotische Wirkung des Nährbodens durch größeren oder geringeren Zusatz von Kochsalz (NaCl) verändert.

Daß übrigens ein Nahrungsmangel nicht allzubald zu befürchten ist, zeigt am besten der Umstand, daß die Stämme des Bacillus mycoides noch auf reinem 1-proz. Agar wachsen. Es findet zwar nur geringes, verhältnismäßig äußerst langsames, aber doch immerhin noch ein Wachstum statt, das zur Sporenbildung ausreicht. Die einzelnen Stämme zeigen dabei wieder geringe, aber gleichbleibende Unterschiede.

Bei Bac. mycoides Flügge besteht die kleine Kolonie aus wenigen einzelnen Bakterienfäden, die durch enge Windungen und Verschlingungen ein zierliches Aussehen haben, und deren Enden man nach 3 Wochen ungefähr 1 cm von der Impfstelle entfernt findet. Bei Bac. mycoides α dagegen liegen die einzelnen Bakterienfäden eng und wirr beisammen, bedecken aber auch nach 3 Wochen erst eine Kreisfläche mit einem Durchmesser von 0,8 cm. Zwischen diesen beiden Wachstumsformen stehen die übrigen drei Stämme in der Reihenfolge Bac. mycoides Flügge, δ, γ, β, α. Gemeinsam ist allen fünf Stämmen, daß keine Astbildung eintritt, und weiter, daß sehr rasch ein Zerfall der Fäden in einzelne Zellen und darauffolgende Sporenbildung stattfindet. Nur die letzte oder auch die beiden letzten Zellen eines Fadens enthalten keine Sporen.

Die übrigen vier Arten gedeihen zwar auf reinem Agar nicht mehr, aber ein ganz geringer Zusatz von Nährstoffen (Pepton) genügt, um ein schwaches Wachstum herbeizuführen.

Man kann demnach für alle Arten eine wenigprozentige Nährlösung als Minimum für das Wachstum annehmen.

Für die weiteren Untersuchungen frägt es sich nun zunächst, ob es angängig ist, durch Zusatz von NaCl die osmotische Wirkung des Nährbodens zu verändern, d. h. ob NaCl nur einen physikalischen oder auch einen chemischen Einfluß ausübt. Nur wenn dies letzte nicht der Fall ist, ist ohne weiteres ein Zusatz von NaCl in der ausgesprochenen Absicht gestattet.

Um die Frage zu beantworten, wurden die Bakterien gleichzeitig in isosmotischen Kochsalz- und Rohrzuckerlösungen kultiviert, denen die übrigen Nährstoffe in gleichen Mengen zugesetzt waren. Und zwar wurden die folgenden beiden Nährlösungen dazu benützt: In 100 g Wasser wurde außer 1 g Agar-Agar, 1 g Pepton und 0,8 g Liebigs Fleischextrakt 1) 2 g NaCl und 2) 17,5 g Rohrzucker gelöst.

Die fünf Stämme des Bac. mycoides verhalten sich auf beiden Nährböden fast völlig gleich. Die Sporenkeimung tritt zu gleicher Zeit ein und das weitere Wachstum geschieht mit derselben Schnelligkeit und in derselben Weise. Nur vollzieht sich die Teilung der Bakterienfäden in einzelne Zellen und damit verbunden auch die Sporenbildung auf salzhaltigem Nährboden früher als auf zuckerhaltigem. Da aber Involutionsformen in gleicher Weise und Menge auf beiden Nährböden entstehen, und da der Zeitunterschied bei der Sporenbildung bei schwächerer Konzentration sehr gering ist und erst bei höherer merklich hervortritt, wo weniger die Zeitdauer für die Sporenbildung als diese selbst in Frage kommt, so kann für die vorzunehmenden Untersuchungen doch NaCl zur Aenderung der osmotischen Wirkung des Nährbodens benützt werden. Zu beachten ist aber, daß Kochsalz die Zellteilung und, wie es auch Schreiber (1896) angibt, die Sporenbildung beschleunigt; natürlich nur bis zu einer gewissen Konzentration, die in diesem Falle ungefähr bei 2 Proz. liegt.

Bacillus dendroides zeigt in keiner Weise irgendwelche Unter-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schiede auf beiden Nährböden. Anders verhält es sich aber mit den übrigen Arten.

Bac. effusus und olfactorius zeigen auf dem zuckerhaltigen Nährboden ein außerordentlich üppiges Wachstum. Nach 3 Tagen ist schon die ganze Platte von 9 cm Durchmesser mit einem dichten, braunen Belage überzogen, während auf dem salzhaltigen Nährboden in der gleichen Zeit die Kolonie nur einen Durchmesser von 0,8 cm erlangt. Die Keimung der Sporen erfolgt jedoch auf beiden Nährböden zu gleicher Zeit. Die Sporenbildung dagegen tritt auf dem zuckerhaltigen Nährboden früher ein als auf dem salzhaltigen. Dies steht in Anbetracht des starken Wachstums auf dem zuckerhaltigen Nährboden mit dem eben für die Stämme des Bac. mycoides ausgesprochenen Satze nur scheinbar im Widerspruch. Es wird sich dies später leicht erklären. Aehnliches wie für diese beiden Bakterienarten gilt auch für Bac. nanus; nur daß hier die Kolonie auf dem zuckerhaltigen Nährboden nach 3 Tagen erst 2,5 cm Durchmesser hat.

Der große Unterschied der beiden Kulturen spricht dagegen, daß NaCl zur Aenderung der osmotischen Wirkung des Nährbodens benutzt werden darf. Wenn es nun dennoch auch für diese 3 Arten verwendet wurde, so geschah dies aus folgenden Gesichtspunkten: 1) erscheint es sehr wahrscheinlich, daß der Unterschied hauptsächlich auf die chemische Einwirkung des Zuckers[1]) zurückzuführen ist. Bei Anwesenheit von Zucker findet nämlich bei den drei Arten eine bedeutend stärkere Ammoniakentwickelung statt, als ohne ihn, was bei Bac. effusus schon durch einen starken Ammoniakgeruch angedeutet wird, während dieser bei Bac. olfactorius in charakteristischer Weise durch einen durchdringenden Geruch nach Mäusedreck verdeckt wird. Außerdem wird der Zucker unter Einwirkung der Bakterien in Säure verwandelt, die sicherlich nicht ohne Einfluß ist. Schließlich entsprechen die Einwirkungen des Kochsalzes bei den 3 Arten ganz genau denen, wie sie durch NaCl bei den Stämmen des Bac. mycoides und dem Bac. dendroides hervorgerufen werden. 2) sollten sämtliche Untersuchungen in gleicher Weise für alle 9 Arten durchgeführt werden.

Bei diesen Untersuchungen bleibt aber immer zu berücksichtigen, daß der Einfluß des Kochsalzes bei dem Bac. effusus, olfactorius und nanus zum Teile auch chemischer Natur sein kann.

a) Sporenkeimung.

Zunächst sei in einer kleinen Tabelle eine Uebersicht über die Zeitdauer gegeben, die auf den verschiedenen Nährböden bis zum Eintritt der Sporenkeimung jeweils vergeht. Zur Impfung der Nährböden wurde immer 2—3 Monate altes Sporenmaterial benutzt.

(Siehe Tabelle I p. 336.)

Da durch die Kulturen auf isosmotischen Kochsalz- und Rohrzuckernährböden gezeigt wurde, daß Kochsalz in chemischer Beziehung die Keimung bei allen 9 Bakterienarten nicht beeinflußt, so geht aus dieser Tabelle deutlich hervor, daß mit Erhöhung der osmotischen Wirkung des Nährbodens die Zeit, die zur Keimung nötig ist, sich erhöht, bis diese schließlich überhaupt nicht mehr stattfindet. Der Maximalgehalt von NaCl, der von der Keimung noch ertragen wird, ist für die einzelnen

---

[1]) Eine ähnliche Wirkung wie Rohrzucker haben auch Trauben- und Milchzucker.

Tabelle I. **Sporenkeimung auf verschiedenen Nährböden.**
(Zeit in Stunden, die von der Impfung bis zum Eintritt der Sporenkeimung vergeht.)

Nährboden	Bac. myc. α	Bac. myc. β	Bac. myc. γ	Bac. myc. δ	Bac. myc. Fl.	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
f) 100 g Wasser, 1 g Agar, 1 g Pepton, 0,8 g Liebigs Fl.-Ex.	8	13	11	8	12	9	12	9	11
g) f + 0,4 g NaCl	8—9	14	11	8	13	10	12	9	11—12
h) f + 1,0 g NaCl	18	24	18	16	18	15	18	15	12—13
i) f + 1,5 g NaCl	24	30—35	28	24	26	24	24	24	14
k) f + 2,0 g NaCl	30—35	60—65	40—45	36—40	35—40	28	30	30—36	15
l) f + 2,5 g NaCl	35—40	84 Max.	45—50	48	40	31	32	40	20
m) f + 3,0 g NaCl	40	—	55 Max.	60	40—45	36	36	48	24
n) f + 3,5 g NaCl	Max.	—	—	72	Max.	Max.	Max.	60	30
o) f + 4,0 g NaCl	—	—	—	84 Max.	—	—	—	72 Max.	40
p) f + 5,0 g NaCl	—	—	—	—	—	—	—	—	60 Max.

Form verschieden. Da einer 1-proz. NaCl-Lösung ein osmotischer Druck von 5,81 Atmosphären entspricht, kann man sich leicht die Unterschiede klarlegen. So wird z. B. von Bac. dendroides ein um 14,52 Atmosphären höherer osmotischer Druck als von Bac. mycoides β ertragen.

Umgekehrt muß nun auch eine Erniedrigung der osmotischen Wirkung des Nährbodens f eine beschleunigende Wirkung auf die Sporenkeimung haben. Von vornherein ist aber ganz selbstverständlich, daß dies nur bis zu einem gewissen Grade richtig sein kann. Denn sobald Nahrungsmangel eintritt, wird wieder eine Verlangsamung der Keimung stattfinden, die mit steigendem Mangel auch zunimmt. Um dies durch den Versuch festzustellen, wurde folgendermaßen verfahren: Zunächst wurde untersucht, wie weit die Nährstoffe verringert werden dürfen, ohne daß eine Verminderung des Wachstums infolge Nahrungsmangel eintritt. Die gesuchte Grenze stellt ein Nährboden e dar, der aus 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,5 g Pepton und 0,2 g Liebigs Fleischextrakt bestand. Das Wachstum erfolgte mit derselben Schnelligkeit und in derselben Ueppigkeit wie auf dem Nährboden f, die Sporenkeimung dagegen fand bei allen 9 Arten durchschnittlich 1—2 Stunden früher statt. Eine weitere Verminderung der Nährstoffe erwies sich als nachteilig. Denn auf einem Nährboden c, der 1 g Agar, 0,25 g Pepton und 0,2 g Liebigs Fleischextrakt in 100 g Wasser enthielt, war das Wachstum geringer und langsamer als auf f und e und die Keimung trat später als auf e, wenn auch noch früher als auf Nährboden f, ein. Ebenso war auch auf den beiden Nährböden a (100 g Wasser, 1 g Agar, 1 g Pepton) und b (100 g Wasser, 1 g Agar, 0,8 g Liebigs Fleischextrakt) das Wachstum langsamer, aber die Sporenkeimung gegenüber der auf dem Nährboden f beschleunigt und gegenüber der auf dem Nährboden e verlangsamt. Bringt man dann aber durch Zusatz von NaCl die Nährböden a, b und c auf dieselbe osmotische Wirkung, die der Nährboden e hat, so findet auf diesen Nährböden die Sporenkeimung mit derselben Schnelligkeit statt, wie auf Nährboden e. Daß dabei NaCl nicht als Nährstoff wirkt, zeigt sofort der Umstand, daß das vegetative Wachstum mindestens in derselben Weise verzögert bleibt, wie ohne

NaCl-Zusatz. Andererseits geht dies auch daraus hervor, daß in physiologischer Kochsalzlösung, genau wie in destilliertem Wasser, die Keimung unterbleibt.

Da sich aus diesen Untersuchungen ergibt, daß die Keimung nur erfolgt, wenn eine geringe Menge Nährstoffe vorhanden ist, daß sie bei einer bestimmten osmotischen Wirkung des Nährbodens am schnellsten und besten stattfindet, und daß, solange diese nicht erreicht ist, durch Zusatz von NaCl die Keimung beschleunigt werden kann, so lag noch die Frage nahe, ob die osmotische Wirkung des Nährbodens von größerer Wichtigkeit für die Keimung ist, als die Art der Nährstoffe. Es wurden zur Beantwortung dieser Frage zwei Nährböden (1 Proz. Agar) hergestellt, von denen der eine neben 1 Proz. NaCl. 5 Proz. Pepton, der andere 0,5 Proz. Traubenzucker enthielt. Das Kochsalz wurde nur zugefügt, um den Unterschied, der zwischen der osmotischen Wirkung einer 5-proz. Pepton- und einer 0,5-proz. Traubenzuckerlösung besteht, weniger hervortreten zu lassen. Es zeigte sich, daß auf beiden Nährböden die Keimung ziemlich zu gleicher Zeit stattfand. Einwandsfrei ist natürlich dieser Versuch nicht, da infolge der unbestimmten osmotischen Wirkung des Peptons die Nährböden nicht völlig isosmotisch waren. Da jedoch Pepton und Traubenzucker so vollständig verschiedene Stoffe sind und dennoch fast die gleichen Ergebnisse gefunden wurden, so ist es höchst wahrscheinlich, daß für die Keimung mehr die osmotische Wirkung als die Art der Nährstoffe in Betracht kommt.

b) Wachstum.

In dem letzten Abschnitte wurde schon darauf hingewiesen, daß auf Nährböden, die noch eine gute Keimung gestatten, nur ein verhältnismäßig langsames Wachstum stattfindet, und daß auf Nährböden, die die Nährstoffe nicht in genügender Menge enthalten, durch Zusatz von NaCl, d. h. durch Erhöhung der osmotischen Wirkung, das Wachstum nicht befördert wird. Dadurch schon wird es klar, daß die Einwirkung der Ernährung auf die Keimung und auf das Wachstum völlig verschieden ist. Ehe jedoch auf das Verhalten der einzelnen Arten eingegangen wird, seien in einer Tabelle die Versuche zusammengestellt.

(Siehe Tabelle II S. 338.)

Zunächst zeigt diese Tabelle, daß ein Zusatz von NaCl einerseits nie das Wachstum befördert, daß aber auch keine Verzögerung eintritt, solange NaCl in geringen Mengen zugesetzt wird, d. h. solange die dadurch hervorgerufene Erhöhung der osmotischen Wirkung gering bleibt. Erst ein Zusatz von 1 Proz. NaCl macht sich deutlich bemerkbar. Das Maximum, das an Kochsalz ertragen wird, ist für die einzelnen Bakterienarten wieder sehr verschieden. Am wenigsten erträgt Bac. mycoides β, der bei einem Zusatz von 2 Proz. nur noch sehr kümmerlich wächst, am meisten Bac. dendroides, für den das Maximum zwischen 4 und 5 Proz. liegt.

Weiter ist aus der Tabelle zu erkennen (a und b), daß Liebigs Fleischextrakt für alle Arten, insbesondere für Bac. effusus, olfactorius, nanus und dendroides ein bedeutend besserer Nährstoff ist als Pepton.

In einer Nährlösung, die statt Pepton 1 Proz. Asparagin enthielt, fand nur spärliches Wachstum statt. Als Stickstoffquelle wird demnach ein Eiweißkörper verlangt.

Dann folgt auch aus der Tabelle, daß der bei der Beschreibung verwandte Nährboden (f und 0,5 Proz. NaCl) noch zu viel Nährstoffe ent-

Tabelle II. Wachstum auf verschiedenen Nährböden.
(Die Zahlen bedeuten Ausdehnung und Dichte der Kolonie 48 Stunden nach der Keimung).

Nährboden	Bac. myc. α	Bac. myc. β	Bac. myc. γ	Bac. myc. δ	Bac. myc. Fl.	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
a) 100 g Wasser, 1 g Agar, 1 g Pepton	2,9	0,8	2,0	3,1	2,2	0,7	0,9	0,5	1,1
b) 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,8 g Liebigs Fleischextrakt	3,2	1,2	2,8	3,5	2,9	2,0	2,4	1,2	2,2
c) 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,25 g Pepton, 0,2 g Liebigs Fl.-Extr.	2,5	0,7	1,5	2,4	1,8	0,9	1,2	0,8	1,5
d) c + 0,5 g NaCl	2,4	0,7	1,5	2,2	1,6	1,0	1,1	0,7	1,3
e) 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,5 g Pepton, 0,2 g Liebigs Fl.-Extr.	4,0	3,2	3,7	4,5	3,2	2,2	2,3	1,6	3,2
f) 100 g Wasser, 1 g Agar, 1 g Pepton, 0,8 g Liebigs Fl.-Extr.	4,2	3,5	3,8	4,5	3,5	2,3	2,2	1,8	3,1
g) f + 0,5 g NaCl	4,2	3,5	3,8	4,5	3,5	2,3	2,2	1,8	3,1
h) f + 1,0 g NaCl	3,3	2,4	2,8	3,4	2,3	2,0	2,1	1,8	2,9
i) f + 1,5 g NaCl	2,5	1,2	1,9	2,7	1,4	1,7	1,9	1,7	2,6
k) f + 2,0 g NaCl	1,7	0,4 Max.	1,2	2,1	0,7	1,2	1,6	1,6	2,2
l) f + 2,5 g NaCl	1,3	—	0,8	1,6	0,4	1,0	1,0	1,4	1,9
m) f + 3,0 g NaCl	0,9	—	0,3 Max.	1,2	0,1 Max.	1,0	0,7	0,9	1,4
n) f + 3,5 g NaCl	0,1 Max.	—	—	0,7	—	0,3 Max.	0,1 Max.	0,5	1,1
o) f + 4,0 g NaCl	—	—	—	0,2 Max.	—	—	—	0,1 Max.	0,8
q) 100 Wasser, 1 g Agar, 0,4 g Liebigs Fl.-Extr., 3 g Traubenzucker	4,5	3,9	4,0	4,8	4,2	5,2	5,7	2,2	4,8

hielt, damit dem Nährboden e fast das gleiche üppige Wachstum erzielt wurde.

Schließlich gibt uns noch der zuletzt versuchte Nährboden q zu denken, auf dem alle 9 Arten am besten gedeihen. Es zeigt dies, daß 0,4 Proz. Liebigs Fleischextrakt wohl als Stickstoffquelle, nicht aber als Kohlenstoffquelle ausreichen. Daß als Kohlenstoffquelle Traubenzucker günstiger als Rohrzucker ist, wenigstens für die Stämme des Bac. mycoides und Bac. dendroides, ergibt ein Vergleich mit dem früher angeführten Versuche, nach dem Rohrzucker nur bei Bac. effusus, olfactorius und nanus eine fördernde, in höheren Konzentrationen aber für die Stämme des Bac. mycoides und dendroides sogar eine verzögernde Wirkung ausübt.

Nach diesen Erfahrungen wurden Nährböden hergestellt, die wohl als optimale bezeichnet werden dürfen, da auf ihnen außer einem ausgezeichneten Wachstum auch eine frühzeitige Keimung und eine gute Sporenbildung stattfindet. Es waren dies:

1) Für die Stämme des Bac. mycoides: 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,4 g Liebigs Fleischextrakt, 0,2 g Pepton und 3 g Traubenzucker.

2) Für Bac. effusus, olfactorius und nanus: 100 g Wasser, 1 g Agar, 0,4 g Liebigs Fleischextrakt, 0,2 g Pepton und 10 g Traubenzucker.

3) Für Bac. dendroides: 100 g Wasser, 0,8 g Liebigs Fleischextrakt, 0,5 g Pepton, 3 g Traubenzucker und 1 g Agar.

Auf zwei Punkte des Wachstums, die mit der Ernährung sich ändern, ist bisher nicht eingegangen worden, da sie aus der Tabelle nicht ersichtlich sind. Es sind dies: 1) die äußere Form der Agarplattenkolonie und 2) die Form der einzelnen Zellen.

Die Form der Agarplattenkolonie der fünf Stämme des Bac. mycoides ist, wie bei der Beschreibung hervorgehoben wurde, durch die „Astbildung" ausgezeichnet. Bemerkenswert ist vor allem, daß das Optimum der Astbildung nicht mit dem des Wachstums zusammenfällt, da bei optimalem Wachstum die Kolonie so dicht wird, daß nur am Rande die Aeste wirklich deutlich zu erkennen sind. Werden aber die optimalen Ernährungsbedingungen nicht ganz erreicht, so wird das Wachstum geringer, die Aeste liegen weiter auseinander und treten daher deutlicher hervor. Dieses ist aber nur so lange der Fall, als die einzelnen Bakterienfäden sich noch einander parallel lagern. Da diese nun jedoch, sobald die Bedingungen für die Nahrungsaufnahme schlechter werden, sich mehr und mehr krümmen und biegen, so kommt ihre Zusammenlagerung nicht zustande oder wird doch bald wieder aufgehoben. Dadurch verlieren die Aeste ihre scharfe Ausprägung mehr und mehr, bis überhaupt jede Astbildung aufhört. So findet man, wie schon oben erwähnt, stark gekrümmte Fäden ohne Aeste auf reinem 1-proz. Agar, schwächer gekrümmte mit verschwommenen Aesten auf den Nährböden a, b und c als Folge von Nahrungsmangel. Durch Erhöhung der osmotischen Wirkung des Nährbodens über das Optimum hinaus wird ebenfalls eine mit der osmotischen Wirkung wachsende Krümmung und Biegung der Bakterienfäden hervorgerufen. Auf Nährboden k (2 Proz. NaCl) trifft man bei keinem der fünf Stämme noch eine Parallellagerung, sondern überall ein wirres Fadengemenge, das je nach dem Stamme, d. h. je nachdem dieser die osmotische Wirkung noch erträgt, aus mehr oder weniger gewundenen und verschlungenen Bakterienfäden besteht (Fig. 22.).

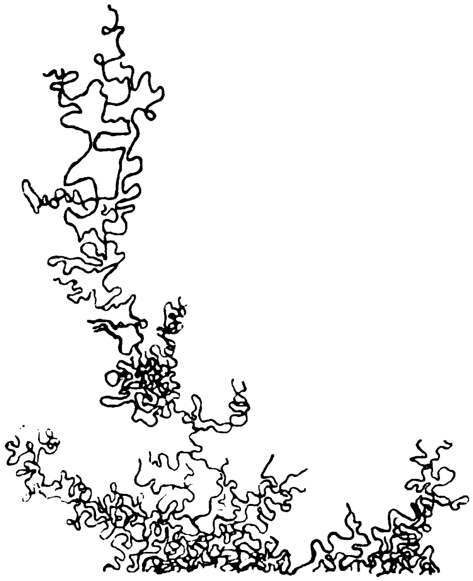


Fig. 22. Randstück der Kolonie des Bacillus mycoides α auf Nährboden k.

Eine schöne Astbildung kann man auf folgende Weise erreichen: In 100 g Wasser werden 3 g Agar, 0,4 g Liebigs Fleischextrakt, 0,2 g Pepton und 3 g Traubenzucker unter Erwärmung gelöst, die Masse mit Soda neutralisiert und dann filtriert. Von dem Filtrat bringt man eine 2—3 mm hohe Schicht in Petri-Schalen und sterilisiert diese im Autoklaven bei 2 Atm. Dampfdruck. Danach läßt man die Schalen langsam erkalten und bringt dann einige Sporen in die Mitte der erstarrten Nährschicht.

Für das Auskeimen und das anfängliche Wachstum genügt das vorhandene Kondenswasser. Dieses wird anfänglich von den Sporen und dann von den dünnen Bakterienfäden kapillar angezogen, die auf diese Weise immer von einer kleinen Flüssigkeitszone umgeben sind. Die weiter entstehenden Fäden wachsen nun jeweils in diesen Flüssigkeitszonen, da sie dem 3-proz. Agar das für ihr Wachstum nötige Wasser nicht entreißen können. Infolgedessen legen sich die Fäden alle zu einigen Aesten einander parallel. Dabei findet, solange genügend Kondenswasser vorhanden ist, ein üppiges Wachstum statt. Um auf dem erstarrten Agar immer eine genügende Menge Wasser zu erhalten, muß man den Nährboden öfters mit etwas sterilisiertem Wasser besprengen, wobei man sich davor zu hüten hat, zu viel Wasser aufzugießen. Nach 5 Tagen ist dann die ganze Platte mit den schönsten Aesten vollständig bedeckt.

Wenn man es versäumt, das verbrauchte und verdunstete Wasser rechtzeitig zu ersetzen, so verlangsamt sich das Wachstum, die Faden werden gekrümmt und gewunden und die Astbildung hört auf, da die Bakterien dem Nährboden die Nährstoffe nur in ungenügender Weise entreißen können.

Hieraus geht hervor, daß auch der Wassergehalt des Nährbodens für die Formbildung der Agarplattenkolonie eine nicht unwesentliche Rolle spielt. Um auch hierüber zahlenmäßige Versuche anzuführen, wurden $^1/_2$-, 1-, 2-, 3-, 4-, 6- und 8-proz. Agarlösungen hergestellt, denen jeweils die Nährstoffe in gleicher Menge zugesetzt waren.

Es zeigt sich, daß auf $^1/_2$-proz. Agarnährböden sich alle fünf Stämme sehr rasch ausbreiten und einen schleierartig feinen Belag erzeugen. Irgendwelche Zusammenlagerungen von Bakterienfäden findet bei keiner Form statt, obwohl die einzelnen Fäden fast völlig gerade sind. Daher verschwinden auch die bei der Beschreibung der Agarplattenkolonie angegebenen Unterschiede fast vollständig. Dies läßt sich wohl dadurch erklären, daß die Festigkeit des $^1/_2$-proz. Agarnährbodens so gering ist, daß immer, wenn ein Bakterienfaden mit seiner Spitze auf einen zweiten stößt, leicht ein Ausbiegen stattfinden kann.

Das Verhalten auf dem 1-proz. Agarnährboden wurde bei der Beschreibung im ersten Teile der Arbeit eingehend behandelt, kann also hier übergangen werden.

Um auf den höherprozentigen Nährböden den Einfluß des Kondenswassers nach Möglichkeit auszuschalten, wurden immer ältere, d. h. seit mehreren, jedoch nie mehr als 2—3 Tagen, gegossene und erstarrte Platten benützt.

In der Keimung trat dann kein wesentlicher Unterschied ein. Es ist daher anzunehmen, daß entweder die schließlich doch noch vorhandenen Reste des Kondenswassers zur Keimung genügen, oder daß die Sporen das Wasser des Nährbodens besser an sich ziehen können, als die Bakterien selbst. Denn schon auf 2-proz. Agarnährboden findet ein geringeres Wachstum statt, als auf 1-proz. Außerdem sind bei allen fünf Stämmen die Aeste undeutlicher. Die einzelnen Bakterienfäden sind jedoch erst wenig gekrümmt. Mit Erhöhung der Konzentration des Agars nimmt dies immer noch mehr zu. Auf 4-proz. Agarboden sind die Fäden sehr stark gekrümmt, Aeste findet man keine mehr und das Wachstum findet sehr langsam statt. 6-proz. Agargallerte gestattet nur noch ein kümmerliches Wachstum, und auf 8-proz. tritt nach der Keimung bald ein Zerfall der Zellen ein.

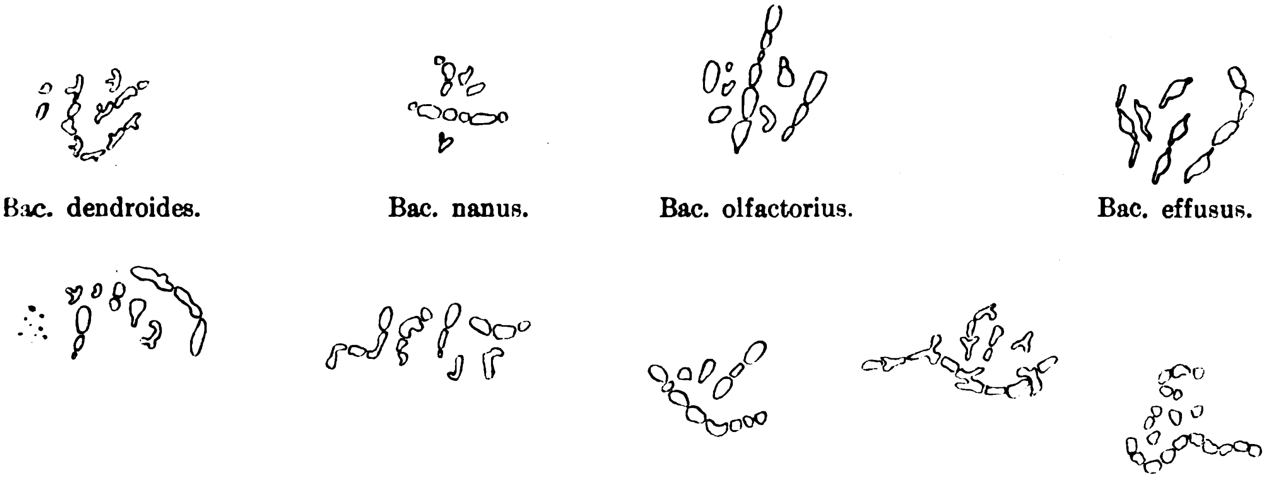
Bei den übrigen 4 Bakterienarten, Bac. effusus, olfactorius, nanus und dendroides treten die Einflüsse auf die äußere Form ihrer Agarplattenkolonieen weniger deutlich hervor, da die Kolonieen eben weniger charakteristisch sind. Nachteilige Wirkungen zeigen sich immer vor allem durch langsamere Ausdehnung der Kolonieen an. Nur bei Bac. dendroides werden die Lappen immer kleiner, bis die Kolonie bei ungünstigeren Bedingungen ganzrandig wird.

Ungünstig wirkt auch hier schon eine 2-proz. Agargallerte ein. Bei einem 2-proz. Salzgehalt des Nährbodens geht bei allen 4 Arten jedes besondere Merkmal der Kolonie verloren.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ein Einfluß auf die Form der Bakterienstäbchen zeigt sich 1) im gesunden Zustande durch geringe Größenschwankungen und 2) als Krankheitszeichen durch das Auftreten besonders veränderter Zellen, Involutionsformen, an.

Die Zellen sind bei allen neun Arten auf Gelatinenährböden kleiner als auf Agarnährböden und auf diesen wieder kleiner als in „Bouillon“. In geringen Mengen wirkt Kochsalz verkleinernd und Traubenzucker vergrößernd auf die Zellen ein. In den oben angeführten optimalen Nährlösungen trifft man bei allen Arten die größten Zellen. Man kann demnach das Kleinerwerden der Bakterienzellen bis zu einem gewissen Sinne auch als krankhaft auffassen. Auf alle Fälle aber ist die Entstehung von Involutionsformen eine Krankheitserscheinung, denn sie findet man immer nur dort, wo ein sehr schlechtes vegetatives Wachstum stattfindet. Sie haben für die einzelnen hier in Frage kommenden Arten immer dieselbe Form, so daß sie auch als Unterscheidungsmerkmal benutzt werden können. Sie sind daher in der obenstehenden Zeichnung zusammengestellt.



Bac. dendroides. Bac. nanus. Bac. olfactorius. Bac. effusus.

Bac. myc. β. Bac. myc. δ. Bac. myc. γ. Bac. myc. Fl. Bac. myc. α.

Fig. 23. Involutionsformen.

Daß sie bei allen Arten nicht zugleich auf demselben Nährboden auftreten, braucht nicht mehr besonders erwähnt zu werden. Bei Bac. mycoides β findet man sie z. B. schon auf dem Nährboden i (1,5 Proz. NaCl), bei Bac. mycoides γ und Bac. mycoides Flügge auf l (2,5 Proz. NaCl), bei Bac. mycoides α, Bac. effusus und Bac. olfactorius auf m (3 Proz. NaCl), bei Bac. mycoides δ und bei Bac. nanus erst auf n (3,5 Proz. NaCl), und bei Bac. dendroides schließlich erst auf o (4 Proz. NaCl).

In entsprechender Weise erhält man durch vermehrten Rohrzuckerzusatz bei den Stämmen des Bac. mycoides und bei Bac. dendroides die Involutionsformen, d. h. sie sind hier von der osmotischen Wirkung des Nährbodens bedingt. Infolge von Nahrungsmangel erscheinen sie z. B. auf reinem Agar, infolge von Wassermangel auf 4-proz. Agarnährboden.

c) Sporenbildung.

Ehe die Einflüsse äußerer Bedingungen auf die Sporenbildung festgestellt werden können, muß ihr regelmäßiger Vorgang klargelegt werden, soweit dies wenigstens mit der homogenen Oelimmersion $^1/_{12}$ geschehen kann[1]).

Zur Beobachtung der Sporenbildung eignen sich vor allem solche Bakterienmassen, die einer „Bouillonkultur“ entnommen sind, da hier bei den meisten hier beschriebenen Arten die Sporenbildung nicht erfolgt. In ungefähr 8 Tage alten Kulturen von Bac. mycoides α, bei dem der Vorgang der Sporenbildung auf dem Objektträger genau verfolgt wurde, findet man lange Zellfäden, die meist schon in einzelne Zellen geteilt sind. Soweit dies nicht der Fall ist, erfolgt es in wenigen Minuten, wenn man die Bakterien in destilliertes Wasser bringt.

In dem anfänglich homogenen Zellinhalte erscheint dann zunächst an jedem Polende der Zelle ein kleines mattes Kügelchen, während fast gleichzeitig der weitere Inhalt ein körniges Aussehen annimmt. Der größte Teil dieser Körnchen wird durch Osmiumsäure schwarz gefärbt. Es handelt sich also vor allem um kleine Fett- und Oeltröpfchen. Die übrigen Körnchen sind nach Guilliermond (1908) Chromatinkörnchen. Die beiden Kügelchen an den Polen, die auch oft in der Mitte der Zelle sich vereinigen, sind als Vakuolen anzusehen, da sie keine Farbstoffe speichern und bei der Plasmolyse, die durch Osmiumsäure hervorgerufen wird, verschwinden. Volutin (vgl. auch Neide, 1904 und Guilliermond, 1908) und Kohlehydrate konnten in den Zellen nicht nachgewiesen werden. Die Fettbildung ist als Vorstufe der Sporenbildung anzusehen, da die Körnchen in die entstehende Spore eingeschlossen werden.

Die Zeit, die von der Entnahme der Bakterienmasse aus der Kulturflüssigkeit bis zum Auftreten der Spore vergeht, ist je nach dem Entwickelungsgrade, d. h. dem Alter der Kultur, verschieden. So dauert bei einer 2 Tage alten Kultur der Vorgang 20 Stunden, bei einer 4 Tage alten 13 Stunden, bei einer 5 Tage alten 10 Stunden und bei einer 6 Tage alten 6—8 Stunden. In Bakterienstäbchen, die einer 14 Tage alten Kultur entnommen werden, sind die Sporen sogar schon in einer halben Stunde gebildet. Diese kurze Zeitdauer hat darin ihren Grund, daß die Vorstufen zur Sporenbildung, so z. B. die Körnchenbildung, alle schon in der Kulturflüssigkeit durchgemacht worden sind, und daß es nur ein äußerer Hinterungsgrund, der Sauerstoffmangel (vgl. Abschnitt 4), ist, der in der Kultur der eigentlichen Sporenbildung entgegensteht.

Der Vorgang der Sporenbildung kann durch alle möglichen äußeren Bedingungen beeinflußt werden. Im allgemeinen wird die Einwirkung durch die Zeitdauer, die bis zum Auftreten der Sporen vergeht, angezeigt werden. Zunächst sei die Zeit, die von der Keimung bis zur Sporenbildung auf den verschiedenen Nährböden verstreicht, wieder durch eine Tabelle veranschaulicht.

(Siehe Tabelle III p. 343.)

Aus der Tabelle geht zunächst hervor, daß für die Sporenbildung der Salzgehalt des Nährbodens noch geringer sein muß als für das Wachstum, und daß im allgemeinen das Maximum der Sporenbildung auf salzhaltigen Nährböden bei allen neun Arten da erreicht oder schon überschritten ist, wo zum ersten Male Involutionsformen auftreten. Es ist dies ganz natürlich, da ja nur gesunde Zellen zur Sporenbildung befähigt sind.

Beobachtet man für das Weitere die früher schon angeführte Beobachtung, daß auf reinem 1-proz. Agar die Sporenbildung sehr früh er-

---

[1]) Genaue Zellstudien, auch über die Vorgänge bei der Sporenbildung des Bac. mycoides Flügge hat Guilliermond (1908) kürzlich veröffentlicht.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle III. Sporenbildung auf verschiedenen Nährböden.
(Die Zahlen bedeuten die Zeit in Stunden, die von der Keimung bis zur Sporenbildung vergeht.)

Nährboden	Bac. mycoides α	Bac. mycoides β	Bac. mycoides γ	Bac. mycoides δ	Bac. mycoides Flügge	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
a	18	72	30	20	24	18	20	28	36
b	20	60	34	24	26	18	22	30	36
c	22	60	34	24	28	20	24	30	36
d	20	60	32	22	26	18	22	30	34
e	24	48	36	24	28	22	22	30	36
f	26	50	36	28	30	24	24	32	36
h	26	54	40	28	30	26	24	32	36
i	.	60 Max.	48 Max.	36	.	.	.	.	38
k	38	—	—	36—40 Max.	30	30—34	30	36—40	38
l	48 Max.	—	—	—	40 Max.	40 Max.	40 Max.	.	.
m	—	—	—	—	—	—	—	48 Max.	40
q	20	60	32	22	24	26	24	36	36

folgt, so liegt der Gedanke nahe, daß eine quantitative Verringerung der Nährstoffe die auslösende Bedingung für die Sporenbildung ist. Dieser Satz wurde in allgemeiner Weise für die Sporenbildung der Pilze von Klebs ausgesprochen und für einige Bakterien von dessen Schüler Schreiber als richtig nachgewiesen. Um ihn auch für die vorliegenden Bakterienarten zu beweisen, wurde folgendermaßen verfahren: Von gut ernährten Bakterien einer 2 Tage alten Agarplattenkultur wurde, ehe die Sporenbildung eintrat, ein Teil in destilliertem Wasser und ein Teil auf eine frische Agarplatte gebracht und die Sporenbildung bei beiden Teilen verfolgt. Während nun in destilliertem Wasser, wo kein vegetatives Wachstum mehr stattfand, nach 24 Stunden fast in allen Zellen Sporen enthalten waren, fand man auf der neugeimpften Agarplatte noch keine. Dagegen zeigte sich hier ein starkes vegetatives Wachstum. Bringt man von dieser Agarplatte einen Teil der Bakterien, womöglich auch von der Impfstelle, ehe die Nährstoffe aufgebraucht sind, wieder auf eine neue, so bleibt auch hier wieder zunächst die Sporenbildung aus. Impft man alle 12 Stunden auf eine neue Agarplatte um, so kann man die Sporenbildung wohl überhaupt unterdrücken. Denn nach 14 Tagen waren auf diese Weise noch keine Sporen gebildet.

Es zeigt dieser Versuch, daß der plötzlich eintretende gänzliche Nahrungsmangel in destilliertem Wasser sehr bald die Sporenbildung herbeiführt, und daß fortwährende gute Ernährung sie hindert. Es frägt sich nun, wie sich die Bakterien verhalten, wenn man sie aus dem destillierten Wasser, ehe die Sporenbildung eingetreten ist, wieder in gute Nahrungsbedingungen zurückversetzt. Zur Beantwortung der Frage wurden von einer 7 Tage alten „Bouillonkultur“ von Bac. mycoides α ausgegangen, in der keine Sporen gebildet waren, aber in destilliertem Wasser innerhalb 4 Stunden auftraten.

Es wurde eine größere Menge Bakterien in ein kleines Schälchen mit destilliertem Wasser gebracht, wobei Sorge getragen wurde, daß die Luft ungehindert Zutritt hatte. Von diesen Bakterien wurden alle 15 Minuten einige wenige in einen Tropfen Nähragar auf das Deckgläschen gebracht, und ihre Entwickelung mit der homogenen Oelimmer-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sion $^1/_{12}$ verfolgt. In den ersten 10 Präparaten, also bis $2^1/_2$ Stunden nach dem Verbringen der Bakterien in destilliertes Wasser, wuchsen diese, ohne Sporen zu bilden, gut vegetativ weiter. Im 11. Präparate zerfiel ein Teil der Zellen, während die anderen, oft auch Involutionsformen bildend, vegetativ weiterwuchsen. Nachdem die Bakterien 3 Stunden in destilliertem Wasser verblieben waren, also im 12. Präparate, zerfielen alle Zellen, ohne vegetativ zu wachsen und ohne Sporen zu bilden. Von den Bakterien, die 15 Minuten später dem destillierten Wasser entnommen wurden, zerfiel nur noch der geringere Teil, während der andere Sporen bildete. In dem nächsten und letzten Präparate bildeten so gut wie alle Zellen Sporen aus. Nur dauerte der Vorgang etwas länger, wie wenn die Bakterien in destilliertem Wasser verblieben wären. Das entsprechende Ergebnis hat schon Klebs (1900) für Pilze gefunden. Mit ihm muß man annehmen, daß die erneute Nahrungszufuhr zunächst die Sporenbildung unterbricht und vegetatives Wachstum hervorruft, daß die Sporenbildung aber schließlich so weit vorgeschritten ist, daß die neue Nahrung sie nicht mehr hindern kann. Dazwischen aber liegt ein Zeitpunkt, an dem die Nahrung wie Gift auf die Zellen wirkt.

Nachdem nun festgestellt ist, daß eine quantitative Verringerung der Nahrung nach vorausgegangener guter Ernährung die Sporenbildung herbeiführt, wird es leicht sein, auch die Sporenbildung in den Plattenkulturen zu erklären. In der Mitte der Kolonie, wo die Sporenbildung immer zuerst stattfindet, ist der Belag am ältesten und am dichtesten; hier werden also auch zuerst die Nährstoffe aufgezehrt sein, oder der Belag ist so dicht, daß die obenauf liegenden Zellen die Nährstoffe nicht mehr erreichen können. Dadurch erklärt sich auch das auf p. 335 angeführte Verhalten, daß nämlich bei Bac. effusus und olfactorius im Gegensatz zu den Stämmen des Bac. mycoides auf zuckerhaltigem Nährboden die Sporenbildung früher als auf salzhaltigem eintritt.

Nicht immer brauchen jedoch sämtliche Nahrungsstoffe verbraucht zu sein, wenn die Sporenbildung eintreten soll. Denn es ist sehr leicht möglich, daß durch die Stoffwechselprodukte der Bakterien die Nahrungsaufnahme verhindert wird. Ferner kann der Mangel an Feuchtigkeit die Sporenbildung beschleunigen, wie man sehr leicht dadurch zeigen kann, daß man etwas Bakterienmaterial auf dem Deckglase eintrocknen läßt.

Der Umstand, daß eine quantitative Verringerung der Nährstoffe die Sporenbildung herbeiführt, erklärt es auch, daß da, wo das beste Wachstum stattfindet, nicht immer auch die Sporenbildung am schnellsten erfolgt. Das beste Wachstum von allen in der Tabelle angeführten Nährböden gestattet der Nährboden q, die Sporenbildung erfolgt aber bei den meisten Arten auf dem Nährboden a, bei vielen Arten auch auf den Nährböden b und c, auf denen ein bedeutend schlechteres Wachstum stattfindet, früher als auf q. Es tritt eben auf Nährböden mit geringerem Nährstoffgehalt früher Nahrungsmangel ein. So findet auch auf e schneller die Sporenbildung statt als auf f. In derselben Weise erklären sich auch alle übrigen aus der Tabelle ersichtlichen Unterschiede.

Bei der Beschreibung der einzelnen Arten wurde hervorgehoben, daß in Gelatinekulturen die Sporenbildung im Verhältnis zu den Agarkulturen immer sehr spät eintritt. Es dürfte sich dies wohl folgendermaßen erklären: Da alle 9 hier untersuchten Bakterienarten die Gelatine verflüssigen, kann der Nährboden besser ausgenutzt werden. Denn die an der Oberfläche verbrauchten Nährstoffe werden in der Flüssigkeit durch Diffusion immer wieder leicht ersetzt. Außerdem werden die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

einzelnen Bakterien, auch wenn die Zoogloea dichter werden sollte, nicht so weit von dem Nährmedium entfernt, daß sie die Nährstoffe nicht mehr an sich reißen können, da sie ja auf oder gar in der Flüssigkeit schwimmen. Schließlich wäre es auch noch möglich, daß eben dadurch, daß die Bakterien meist in der Flüssigkeit untergetaucht sind, der zur Sporenbildung nötige Sauerstoff nicht genügend Zutritt hat.

Eine weitere Untersuchung über die Physiologie der Sporenbildung, insbesondere eine Untersuchung über die Stoffe, die eine Beschleunigung der Sporenbildung herbeiführen, wurde unterlassen, da hierüber schon die Versuche Schreibers (1896) mit Bac. anthracis, subtilis und tumescens vorliegen.

2. Einfluß des Lichtes.

Diffuses Tageslicht übt ebensowenig wie völlige Dunkelheit weder eine fördernde noch eine hemmende Wirkung auf Keimung, Wachstum und Sporenbildung aus.

Um auch den Einfluß direkter Sonnenstrahlen festzustellen, wurden erstarrte Agarplatten mit Sporen geimpft und um den Einfluß der Wärme auszuschalten, mit Paraffin zugeschmolzen und unter fließendem Wasser bei einer Temperatur von 26° C den Sonnenstrahlen ausgesetzt. Beginn der Kultur morgens $7^1/_2$ Uhr.

Die einzelnen Arten zeigten folgendes Verhalten: Bac. mycoides δ hat nach 24 Stunden gekeimt, Bac. mycoides α nach 40 Stunden, Bac. mycoides β und Bac. effusus nach 48 Stunden, Bac. olfactorius nach 60 Stunden und Bac. nanus nach 5 Tagen. Bac. mycoides Flügge und γ und Bac. dendroides keimten überhaupt nicht.

Nachdem die Kulturen 8 Tage in der Sonne gehalten waren, hatte die Kolonie von Bac. mycoides α einen Durchmesser von 3 cm, die von Bac. mycoides δ einen solchen von 2,5 cm. Beide Formen hatten genau dasselbe Aussehen, wie wenn sie im Dunkeln oder in diffusem Tageslicht gewachsen wären. In der Mitte der Kolonie findet man neben vielen sporentragenden Zellen auch zahlreiche Involutionsformen. Die Sporen erweisen sich als keimfähig.

Bac. mycoides β war, nachdem die Keimung stattgefunden hatte, nicht weitergewachsen. Eine Untersuchung mit der homogenen Oelimmersion $^1/_{12}$ ergab, daß die meisten Zellen zerstört waren, während sich nur noch wenige Involutionsformen fanden.

Sehr gutes Wachstum zeigt Bac. olfactorius. Nach 8 Tagen hat die Kolonie einen Durchmesser von 2,5 cm. Man findet keine Involutionsformen, dagegen sehr viele Sporen.

Darin unterscheidet er sich von der nahe verwandten Art Bac. effusus. Obwohl auch hier eine verhältnismäßig rasche Ausdehnung der Kolonie stattfindet, werden sehr viele Involutionsformen und keine Sporen ausgebildet.

Auch bei Bac. nanus findet man trotz einer ziemlich großen Kolonie keine Sporen, aber sehr viele Involutionsformen.

Die Kulturschalen der Arten, die nach 8 Tagen in der Sonne nicht gekeimt hatten, wurden bei einer Temperatur von 30° C ins Dunkle gestellt, um zu sehen, ob die Keimfähigkeit der Sporen unterdrückt ist. Es zeigte sich, daß Bac. dendroides nach 30—36 Stunden keimte und dann in regelmäßiger Weise weiterwuchs. Dagegen keimten Bac. mycoides Flügge und γ nicht mehr.

Um zu prüfen, ob diese beiden Arten in der Sonne wachsen, wurden

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

junge, etwa 24 Stunden alte Agarplattenkulturen der Sonne in der oben angegebenen Weise ausgesetzt. Anfänglich fand noch ein geringes Wachstum statt. Am 2. Tage enthielt die Kolonie am Rande nur Involutionsformen, in der Mitte jedoch einige Sporen.

Es zeigen also alle fünf Stämme des Bac. mycoides auch in ihrem Verhalten den Sonnenstrahlen gegenüber ganz bedeutende Unterschiede. Während bei Bac. mycoides α und δ die Sonne nur eine Verlangsamung des Wachstums herbeiführt, aber eine regelmäßige Sporenbildung gestattet, verhindert sie bei Bac. mycoides β ein gesundes Wachstum und jegliche Sporenbildung. Bei Bac. mycoides Flügge und γ läßt sie auch die Keimung nicht mehr zu.

Daß bei diesen beiden letzten Stämmen, nachdem die Keimung im Dunkeln erfolgt ist, in der Sonne anfänglich noch ein geringes Wachstum stattfindet, läßt sich so etwa erklären, daß eine kräftige, gut ernährte Kolonie noch ganz kurze Zeit der Einwirkung der Sonne zu widerstehen vermag. Die wenigen Sporen, die man in der Mitte dieser Kolonieen findet, dürfen wohl mit Sicherheit auf solche Zellen zurückgeführt werden, die, ehe die Kolonie der Sonne ausgesetzt wurde, schon so weit ausgebildet waren und so viele Reservestoffe gespeichert hatten, daß sie sofort in der Sonne zur Sporenbildung befähigt waren, In diesem Falle dürfte dann die Sonne beschleunigend auf die Sporenbildung einwirken.

Nach diesen Auseinandersetzungen erklärt sich das Verhalten der übrigen Arten von selbst.

3. Einfluß der Wärme.

Der Einfluß, den die Wärme auf die Keimung und die Sporenbildung ausübt, wird allein durch die Zeitdauer angezeigt, die jeweils zu dem Vorgang nötig ist. Es wird daher genügen, die Versuche, die über den Einfluß der Wärme auf die Keimung und die Sporenbildung angestellt wurden, in zwei Tabellen zusammenzustellen. Für das Wachstum kommt nicht allein die Schnelligkeit des Wachstums, sondern auch die Form der Kolonie und der einzelnen Zellen in Betracht. Es wird aber nur die Schnelligkeit tabellarisch behandelt werden können.

In den Tabellen sind die Kardinalpunkte jeweils durch fetten Druck der betreffenden Zahlen angezeigt.

(Siehe a) Sporenkeimung Tabelle IV p. 347.)

b) Wachstum.

Es soll zunächst der Einfluß, den die Wärme auf die Schnelligkeit des Wachstums ausübt, durch eine Tabelle veranschaulicht werden.

(Siehe Tabelle V p. 348.)

Genau wie bei dem Einfluß der Ernährung zeigt sich auch hier, daß das Optimum für die Astbildung bei den Stämmen des Bac. mycoides nicht mit dem des Wachstums zusammenfällt. Vielmehr werden bei allen fünf Stämmen bei einer Temperatur von ungefähr 23° C bedeutend stärkere und schärfer ausgeprägte Aeste gebildet, als bei der um einige Grade höher liegenden optimalen Temperatur. Die Erklärung für dies Verhalten ergibt sich ohne weiteres aus dem, was schon bei der Ernährung gesagt wurde.

Bei Erhöhung der Wärme über das Optimum hinaus tritt keine stärkere Astbildung ein, da hierbei bald die einzelnen Zellfäden stark gekrümmt werden und jede Zusammenlagerung der Zellfäden bald überhaupt aufhört. So hört sie schon bei 31° C bei Bac. mycoides Fl.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

a) Sporenkeimung.

Tabelle IV. Einfluß der Wärme auf die Sporenkeimung.
(Die Zahlen bedeuten die Zeit in Stunden, die von der Impfung bis zur Keimung vergeht.)

Temp. in C	Bac. mycoides α	Bac. mycoides β	Bac. mycoides γ	Bac. mycoides δ	Bac. mycoides Flügge	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
6°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8°	—	—	Min.	Min.	Min.	Min.	—	—	—
10°	Min.	—	48	36	55	30	Min. 28	—	Min. 36
12°	34	Min. 36	40	30	48	24	24	Min. 30	24
14°	24	28	36	26	40	20	20	26	18
23°	18	24	24	20	24	17	18	21	15
27°	14	20	17	14	13	.	.	.	.
28°	12	15	15	.	10—11 Opt.	.	.	.	.
29°	10—11	12—13 Opt.	13	10	12	13	14	10	12
30°	8—9 Opt.	14	11	8 Opt.	13	10	12	9 Opt.	11—12
31°	10	.	10 Opt.	10—11	.	8 Opt.	11	11	.
32°	.	.	12	.	.	9	10 Opt.	.	.
33°	.	.	14	.	.	.	12	.	8
35°	18	28	20	22	24	11	14	14	7 Opt.
38°	.	35	.	.	.	.	.	.	9
39°	.	Max.	.	.	36	.	.	16	.
40°	32	—	36	35	40 Max.	15	16	17 Max.	12
41°	36	—	Max.	Max.	—	.	.	—	.
43°	Max.	.	—	—	.	.	.	.	.
45°	—	.	.	.	.	17	18	.	18
47°	.	.	.	.	.	18	.	.	20 Max.
49°	.	.	.	—	.	18	20	.	—
51°	.	.	.	.	.	20	24 Max.	.	.
53°	.	.	.	.	.	Max.	—	.	.

auf, bei den übrigen vier Stämmen findet man sie bei 33° C nicht mehr. Bei 35° C wird bei allen fünf Stämmen die Kolonie von einem gleichmäßigen, mehr oder weniger dichten Belag gebildet, der am Rande noch schwache, kurze Ausstrahlungen aufweist, die bei noch höherer Wärme ebenfalls verschwinden.

Die Arten Bac. effusus, olfactorius und nanus zeigen genau wie früher bei der Ernährung, sobald die optimale Wärme für das Wachstum nicht vorhanden ist, keine besonderen äußeren Formen mehr. Die Kolonie ist vielmehr immer ein uncharakteristischer, gleichmäßiger Belag.

Für alle 9 Arten sind die Wärmegrade, die unter dem Optimum liegen, von geringerem Einfluß auf die äußere Form der Kolonie. Es rührt dies vor allem daher, daß die einzelnen Zellfäden viel später erst gekrümmt werden. Bei 14° C haben jedoch alle Formen ihr charakteristisches Aussehen verloren.

Aehnlich ist die Einwirkung der Wärme auf die Form der Zellen insofern, als auch hier die Wärme, die wenig über dem Optimum liegt, schon ungünstig einwirkt, während die unter dem Optimum liegende

Tabelle V. **Einfluß der Wärme auf das Wachstum.**
(Die Zahlen bedeuten Ausdehnung und Dichte der Kolonie 48 Stunden nach der Keimung.)

Temperatur in C	Bac. myc. α	Bac. myc. β	Bac. myc. γ	Bac. myc. δ	Bac. myc. Fl.	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
6°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10°	—	—	**0,1**	**0,3**	—	—	—	—	**0,2**
12°	**0,4**	**0,2**	0,5	0,9	**0,2**	**0,1**	**0,1**	—	—
14°	0,75	0,5	0,8	1,8	0,6	0,4	0,6	**0,3**	1,5
23°	2,4	1,2	2,5	2,8	2,6	1,2	1,4	0,8	2,5
27°	3,5	2,8	3,1	.	3,7	1,6	1,7	.	.
28°	3,8	3,4	.	3,7	**3,9**	.	.	.	.
29°	**4,1**	**3,8**	3,6	4,2	3,8	2,0	2,0	1,6	3,1
30°	**4,2**	3,5	3,8	**4,5**	3,5	2,3	2,2	**1,8**	.
31°	4,0	.	**3,9**	3,8	.	.	2,5	1,5	.
32°	3,0	1,9	3,5	.	3,0	3,0	**2,8**	.	3,5
33°	2,5	.	.	.	.	**3,2**	2,0	.	3,7
35°	1,8	0,4	1,4	1,5	1,8	2,8	1,2	0,6	**4,2**
38°	0,75	Max.	0,5	0,8	Max.	.	1,1	0,2	3,0
39°	0,4	—	Max.	**0,2**	—	.	.	Max.	.
40°	0,3	—	—	—	—	1,6	1,0	—	1,6
41°	Max.	.	.	.	.	.	.	.	.
42°	—	.	.	.	.	1,2	0,8	.	.
43°	.	.	.	.	.	.	.	.	0,7
45°	.	.	.	.	.	1,0	0,7	.	**0,2**
47°	.	.	.	.	.	0,5	0,4	.	—
48°	.	.	.	.	.	0,3	Max.	.	—
50°	.	.	.	.	.	Max.	—	.	.

Wärme bis zu 14° C ohne jeden Schaden ertragen wird. Man findet z. B. bei 35° C schon bei allen Arten, mit Ausnahme von Bac. effusus, olfactorius und dendroides, Involutionsformen. Bei diesen drei Arten treten sie erst bei ungefähr 40° C auf.

Auf die Zellteilung hat die Wärme keinen bemerkenswerten Einfluß.

c) Sporenbildung.

In der untenstehenden Tabelle ist die verschiedene Zeitdauer, die zur Sporenbildung bei den einzelnen Arten nötig ist, zu beachten. Dieser Umstand kann nämlich, wie der Unterschied in den Kardinalpunkten, ebenfalls zur Unterscheidung der einzelnen Arten benutzt werden.

(Siehe Tabelle VI p. 349.)

Ein Vergleich der drei Tabellen für den Einfluß der Wärme auf die Sporenkeimung, auf das Wachstum und die Sporenbildung zeigt, daß die Wärmegrade des Optimums für die drei Vorgänge jeweils zusammenfallen, daß dagegen das Wachstum in engeren Grenzen als die Keimung und daß die Sporenbildung in noch engeren Grenzen als das Wachstum stattfindet, wie dies wohl allgemein für alle äußeren Einflüsse, nicht nur für den Einfluß der Wärme gilt.

Es steht dies mit den Angaben Blaus in Widerspruch, der die Temperaturmaxima der Sporenkeimung, des Wachstums und der Sporenbildung gleichmäßig für Bac. mycoides Fl. auf 30—35° C angibt.

Dagegen stimmt das hier gefundene Ergebnis mit dem von Klebs allgemein für Pilze ausgesprochenen Satze überein, daß die Bildung der Fortpflanzungsorgane in engeren Grenzen als das Wachstum stattfindet,

Tabelle VI. Einfluß der Wärme auf die Sporenbildung.
(Die Zahlen bedeuten die Zeit und Stunden, die von der Keimung bis zur Sporenbildung vergeht.)

Temperatur in C	Bac. myc. α	Bac. myc. β	Bac. myc. γ	Bac. myc. δ	Bac. myc. Fl.	Bac. effusus	Bac. olfactorius	Bac. nanus	Bac. dendroides
8°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10°	?	—	—	—	132	—	—	—	—
12°	96	?	—	96	108	—	96	—	—
14°	72	96	120	84	90	60	72	96	60
23°	45	68	68	48	40	44	48	56	48
27°	32	.	.	.	26	.	.	.	.
28°	29	50	.	.	24	.	.	.	.
29°	28	48	.	29	27	.	.	35	.
30°	28	50	36	28	30	24	24	32	36
31°	27	.	32	28	.	.	20	34	.
32°	.	.	35	.	.	18	18	.	.
33°	.	64	.	.	40	17	20	.	32
35°	40	72	45	40	48	20	.	44	28
38°	.	—	56	42	—	.	.	48	31
39°	48	.	—	—	—	.	.	—	.
40°	48	—	—	—	—	30	32	—	34
41°	—	.	.	.	.	.	.	.	.
43°	.	.	.	.	.	.	36	.	36
45°	.	.	.	.	.	.	.	.	—
47°	.	.	.	.	.	39	40	.	.
49°	.	.	.	.	.	40	—	.	.

der hier noch dahin erweitert wird, daß die Keimung in noch weiteren Grenzen, als das Wachstum möglich ist.

So sind involutierte Zellen noch oft zur Teilung, nie aber zur Sporenbildung befähigt. Die Involutionsformen gehen immer allmählich durch Zerfall zugrunde. Aber auch nichtinvolutierte Zellen können zerfallen. Der Vorgang vollzieht sich sehr regelmäßig: der Zellinhalt (Protoplasma) zieht sich auf einige runde, hellglänzende Kügelchen zusammen, die begierig Farbstoffe speichern. Darauf löst sich langsam die Zellhaut durch Verquellen auf und die Kügelchen werden frei. Diese bleiben noch längere Zeit erhalten und stören oft das mikroskopische Bild, da sie leicht als Verunreinigung angesehen werden können. Schließlich lösen sie sich dann ebenfalls auf.

4. Einfluß des Sauerstoffes.

Bisher wurden alle Versuche unter der Voraussetzung ausgeführt, daß der Luftsauerstoff ungehindert Zutritt zu den Kulturen hat.

Um zu sehen, welchen Einfluß er ausübt, wurden Kulturversuche im luftleeren Raume angestellt. Dieser wurde auf folgende Weise hergestellt: Eine Glasglocke von ziemlicher Höhe wurde auf eine Metallplatte gestellt, die in der Mitte mit einem gut schließenden Lufthahn versehen war. Die Glocke wurde dann mit der Wasserstrahlpumpe ausgepumpt, nachdem mit einem besonders dafür bestimmten Fette der Ring, an dem die Glasglocke auf der Platte aufsaß, luftdicht verschlossen war. Um den Erfolg beobachten zu können, war ein Quecksilbermanometer von 30 cm Höhe unter die Glocke gestellt worden. Es zeigte sich, daß auf diese Weise der Luftdruck unter der Glocke bis auf 3 bis 4 mm erniedrigt werden konnte. Damit schließlich auch die letzten

Spuren von Sauerstoff vertilgt wurden, wurde ein Glas unter die Glocke gestellt, das in Kalilauge frisch gelöstes Pyrogallol enthielt.

In dem auf diese Weise hergestellten Raume fand die Sporenkeimung aller 9 Arten genau mit derselben Schnelligkeit statt, wie bei freiem Luftzutritt. Das Wachstum dagegen wurde bei allen mehr oder weniger verlangsamt. Dabei blieb bei den Stämmen des Bac. mycoides die Astbildung auf der Agarplatte in derselben Weise erhalten, bei den übrigen 4 Arten dagegen ging jedes besondere Merkmal verloren. Hier wurde die Kolonie jeweils von einem gleichmäßigen, ganzrandigen Belage gebildet. Diesem Verhalten entsprechend, sind sämtliche 9 Arten zu den „fakultativ anaëroben“ zu rechnen.

Sporen wurden im luftleeren Raume nur von Bac. dendroides gebildet. Bei allen übrigen Arten fand man auch nach 8 Tagen, als schon die Platte dicht bedeckt war, noch keine Sporen, obwohl auch keine Involutionsformen entstanden waren. Nachdem jedoch diese Kulturen nur kurze Zeit, etwa $^1/_2$—1 Stunde, dem freien Sauerstoff der Luft ausgesetzt worden waren, waren fast in allen Zellen Sporen ausgebildet.

Es zeigt dies wieder, daß, wie schon im ersten Abschnitte dieses Teiles angeführt wurde, nur der Sauerstoffmangel die Sporenbildung hindert. Da sie jedoch in so rascher Weise beim nachträglichen Luftzutritt erfolgt, da also die Vorstufen zur Sporenbildung alle durchgemacht sind, so ergibt sich, daß der Sauerstoff für die Sporenbildung zwar notwendig ist, daß er aber nicht als reizauslösende Bedingung zu betrachten ist.

Daß aber der von Schreiber (1896) ausgesprochene Satz, daß nämlich der Sauerstoff der Luft für die Bildung der Sporen aërober Bakterien eine spezifische und notwendige Bedingung ist, nicht allgemeine Gültigkeit hat, zeigt das Verhalten des Bac. dendroides, der auch im luftleeren Raum keimfähige Sporen ausbildet. Es ist möglich, sogar höchst wahrscheinlich, daß der Satz für obligat aërobe Bakterien streng gilt, und daß die fakultativ anaëroben alle möglichen Uebergangsstufen zu den obligaten anaëroben bilden (bei denen Sauerstoffzutritt die Sporenbildung herbeiführt, trotzdem der Nährboden noch viel Nährstoffe enthält), d. h. neben solchen fakultativ anaëroben, die sich dem Sauerstoff der Luft gegenüber wie die obligat aëroben verhalten, gibt es auch solche, die auch ohne Sauerstoff Sporen bilden. Es ließe sich dies auch mit den Angaben Matzuschitas in Uebereinstimmung bringen, daß nämlich die von ihm untersuchten fakultativen Anaëroben bei Sauerstoffabschluß sehr wohl, wenn auch langsam, Sporen bilden.

Die Stämme des Bac. mycoides sind gegen Sauerstoff äußerst empfindlich. Denn in Flüssigkeitskulturen unterbleibt die Sporenbildung immer, wenn die Kulturgefäße nicht zu oft umgeschüttelt werden. Daß man in älteren Kulturen durch häufiges Umschütteln die Sporenbildung herbeiführen kann, dürfte sich dadurch erklären, daß durch das Schütteln die Flüssigkeit mit Luft und damit mit Sauerstoff vermischt wird.

Zum Schlusse des ganzen physiologischen Teiles der Arbeit sei eine Zusammenfassung der gesamten Ergebnisse gegeben, soweit die allgemeine Gültigkeit erlangen können.

a) Sporenkeimung.

1) Zur Auslösung der Keimung ist ein bestimmter äußerer Reiz nötig, der durch irgend welche, auch zum Wachstum nicht ausreichende Nährstoffe ausgeübt wird.

2) Dabei ist die Konzentration der Nährstoffe, d. h. ihre osmotische Wirkung, von größerer Bedeutung als ihre Art.

3) Wenn die optimale Konzentration der Nährstoffe noch nicht erreicht ist, übt ein Zusatz von NaCl einen beschleunigenden, wenn sie überschritten ist, dagegen einen mit steigender Konzentration immer stärker werdenden verzögernden Einfluß aus.

4) Der Sauerstoff der Luft hat auf die Keimung der fakultativ anaëroben Bakterien keinen Einfluß.

b) Wachstum.

1) Nicht immer, wo eine Keimung stattfindet, ist auch ein Wachstum möglich, d. h. das Wachstum geschieht in engeren Grenzen als die Keimung.

2) Das Wachstum ist in ausgedehntem Maße von der osmotischen Wirkung des Nährbodens abhängig. Zu starke Konzentration verlangsamt das Wachstum, verändert die Form der Agarplattenkolonie und erzeugt leicht Involutionsformen. Schließlich hört überhaupt das Wachstum auf. Zu niedrige Konzentration stellt das Wachstum infolge Nahrungsmangel bald in Frage. Ein Zusatz von NaCl wirkt in diesem Falle nicht fördernd. Die günstigste osmotische Wirkung zeigt immer der Nährboden, dessen Nährstoffe gerade noch ein gutes Wachstum gestatten.

c) Sporenbildung.

1) Eintretender Nahrungsmangel nach vorausgegangenem guten Wachstum ist als auslösende und notwendige Bedingung für die Sporenbildung anzusehen.

2) Bei andauernder guter Ernährung unterbleibt die Sporenbildung.

3) Schlechte Ernährung oder ungünstige äußere Bedingungen stellen die Sporenbildung in Frage.

4) Der Sauerstoff der Luft ist für die Sporenbildung obligat aërober Bakterien eine spezifische und notwendige Bedingung, für die Sporenbildung fakultativ anaërober Bakterien dagegen nicht immer.

IV. Schlussteil.

1. Verbreitung.

Bei einer sehr großen Reihe von bakteriologischen Untersuchungen wurde Bac. mycoides schon isoliert. Flügge (1896) selbst fand ihn „fast in jeder Erdprobe“, Lehmann und Neumann bezeichnen ihn als „gemein im Boden“. Zimmermann (Eisenberg 1891) isolierte ihn aus der Chemnitzer Wasserleitung. Nach Emmerling (1897) spielt Bac. mycoides Flügge eine große Rolle bei der Heugärung. Stoklasa (1898 und 1899) fand ihn in Samenknäuelchen der Zuckerrübe, wo er nach der Keimung der Zuckerrübe eine Krankheit des Keimlings, den Wurzelbrand, hervorrufen soll. König (1900) läßt ihn bei der Tabakfermentation mitwirken. Belli (1900) konnte ihn aus Hagelkörnern isolieren. Nach Neide (1904) findet er sich im Pferdekot, im Mist und im Straßenschlamm. Harrison (1907) schließlich isolierte ihn aus faulen Kartoffeln. Viele weiteren Untersuchungen könnten noch angeführt werden. Da sie aber alle nichts Neues bringen, sondern lediglich für die außerordentlich weite Verbreitung des Bac. mycoides zeugen, können sie hier übergangen werden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Eigene Versuche wurden daher nur zu dem Zwecke angestellt, um die Verteilung der einzelnen Stämme feststellen zu können.

Aus der Erde konnten immer nur die beiden Stämme Bac. mycoides Flügge und Bac. mycoides δ gewonnen werden, diese jedoch fast in jeder Erdprobe, d. h. nur ausnahmsweise beide nebeneinander, im allgemeinen immer der eine oder der andere. Nur die Untersuchung von Sand, der der Grube frisch entnommen war, und einer Probe von verwittertem Kalkboden aus der Pfalz hatten negatives Ergebnis.

Da die übrigen drei Stämme aus tierischen Eingeweiden zuerst gefunden worden waren, wurden noch weitere Tiere untersucht.

Der Stamm Bac. mycoides β konnte nur, jedoch wiederholt, aus dem Blinddarm des Meerschweinchens, Bac. mycoides γ nur, aber regelmäßig aus dem Darm des Mehlwurms (Larve von Tenebrio molitor) isoliert werden. Demgegenüber wurde Bac. mycoides α, außer in dem Darm des Meerschweinchens, noch in dem des Goldfisches gefunden. Bac. mycoides δ fand sich noch in dem Darm des Frosches und Bac. mycoides Flügge in dem des Regenwurmes. Negative Ergebnisse lieferten die Untersuchungen des Dünndarmes des Kaninchens, des Darmes von Fliegenlarven und der Eingeweide des Fadenwurmes Mermis.

Der Umstand, daß auch aus dem Darm des Goldfisches einer der Stämme isoliert werden konnte, legte den Gedanken nahe, daß auch im Wasser die Keime der Gruppe Bac. mycoides verbreitet seien. Im Neckarwasser wurde denn auch Bac. mycoides α und δ, Bac. olfactorius und Bac. nanus gefunden. In der Heidelberger Wasserleitung fand sich nur eine Reihe anderer Bakterien. Daß sich in stehenden Gewässern die Stämme finden, ist sehr natürlich, da ja jederzeit durch Staub und sonstige Verunreinigungen die Keime hineingetragen werden können.

Es zeigen diese Befunde, daß bestimmten Stellen des Bodens und den Eingeweiden bestimmter Tiere immer auch ganz bestimmte Stämme eigentümlich sind. Dies könnte den Gedanken erwecken, daß die einzelnen Stämme durch allmähliche Anpassung an die äußeren Bedingungen auseinander entstanden sind. Um diese Anschauung näher zu prüfen, wurde der Versuch gemacht, Bac. mycoides α durch andauernde Weiterzüchtung auf „Zuckernähragar“ (1 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton, 0,8 Proz. Liebigs Fleischextrakt, 1 Proz. Rohrzucker) und auf Nährboden k (2 Proz. NaCl) so umzuändern, daß er neue bleibende Eigenschaften annimmt, jedoch ohne Erfolg. Denn die von der dritten oder vierten Kultur an schon auftretenden kleinen Unterschiede verschwinden immer bald wieder. Es scheint jedoch noch nicht ausgeschlossen, daß bei genügend langer Kultur die Annahme bestätigt wird.

2. Die chemischen Eigenschaften

sind für die einzelnen Arten außerordentlich übereinstimmend.

Bei allen fehlt eine Gasbildung.

Alle haben sie, wie bei der Beschreibung hervorgehoben wurde, die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen.

Der chemische Vorgang in der Milchkultur, auf die ebenfalls bei der Beschreibung schon hingewiesen wurde, ist bei allen Arten, mit Ausnahme des Bac. olfactorius derselbe und dürfte etwa folgendermaßen verlaufen: Zuerst wird der in der Milch vorhandene Milchzucker in eine Säure, jedenfalls Milchsäure, vergoren. Infolge dieser Säurebildung gerinnt die Milch. Ob außer der Säure noch ein Labferment hierbei mitwirkt, wurde nicht untersucht, da dies nicht sehr wahrscheinlich schien, weil nämlich bei Bac. olfactorius zugleich mit der Säurebildung auch die Koagulation unterbleibt. Nun wird das geronnene Kaseïn von den Bakterien angegriffen und peptonisiert. Bac. olfactorius zersetzt das in der Milch enthaltene Eiweißmolekel direkt.

Diesem Verhalten entsprechend, muß man sämtliche 9 Bakterienarten zu der Gruppe der „trypsinogenen Bakterien" (Fischer), nicht zu den Fäulnisbakterien rechnen. Daran ändert auch der Umstand nichts, daß bei allen 9 Arten das charakteristische Fäulnisprodukt Indol in Spuren nachgewiesen werden kann, insbesondere da die Schwefelwasserstoffbildung fehlt.

Außer aus Milchzucker wird auch aus Rohrzucker und Traubenzucker Säure gebildet. Es zeigen dies schon alle zuckerhaltigen Nährböden, die nach kurzem Wachstum immer deutlich sauer reagieren. Wenn jedoch der Zuckergehalt des Nährbodens gering und der Stickstoff-(Pepton-)Gehalt stark ist, reagiert der Boden nach längerer Kultur wieder stark alkalisch. Um den Grad der Säurebildung zahlenmäßig festzustellen, wurden die Bakterien in der folgenden Nährlösung kultiviert. In 100 g Wasser waren 2 g Traubenzucker und 0,8 g Liebigs Fleischextrakt gelöst und der Lösung bis zur schwach alkalischen Reaktion Soda zugesetzt. Um 10 ccm der Lösung zu neutralisieren, waren 0,5 ccm $^1/_2$ normale H_2SO_4 nötig. Nach 10-tägiger Kultur der Bakterien in dieser Nährlösung waren zur Neutralisation von 10 ccm der Kulturflüssigkeit nötig:

1)	bei Bac. mycoides α	1,0	ccm	6)	bei Bac. effusus	1,1	ccm
2)	„ „ „ β	0,72	„	7)	„ „ olfactorius	1,05	„
3)	„ „ „ γ	0,7	„	8)	„ „ nanus	1,0	„
4)	„ „ „ δ	0,95	„	9)	„ „ dendroides	0,8	„
5)	„ „ „ Flügge	0,9	„				

einer $^1/_{10}$ normalen NaOH-Lösung. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den einzelnen Arten macht sich also nicht bemerkbar.

Daß sowohl die Milchkultur als auch die zuckerhaltigen Nährböden schließlich wieder alkalisch reagieren, beruht darauf, daß bei der Zersetzung des Eiweißstoffes (Kasein, Pepton) Alkalibildung stattfindet. Dabei wird es sich vor allem um Ammoniak handeln, der bei Bac. effusus und olfactorius auch in geringen Mengen in Gasform entweicht.

In einer Nährlösung, die 100 g Wasser, 5 g Pepton, 0,8 g Liebigs Fleischextrakt und 0,4 g NaCl enthielt und infolge Zusatzes von Soda schwach alkalisch reagierte (es waren 0,5 ccm einer $^1/_2$ normalen H_2SO_4 nötig, um 10 ccm der Lösung zu neutralisieren. Indikator: Methylorange), wurde innerhalb 14 Tagen von den einzelnen Bakterien so viel Alkali gebildet, daß zur Neutralisation von 10 ccm der Kulturflüssigkeit nötig waren:

1)	bei Bac. mycoides α	2,0	ccm	6)	bei Bac. effusus	3,5	ccm
2)	„ „ „ β	3,25	„	7)	„ „ olfactorius	2,5	„
3)	„ „ „ γ	1,5	„	8)	„ „ nanus	2,76	„
4)	„ „ „ δ	3,0	„	9)	„ „ dendroides	1,25	„
5)	„ „ „ Flügge	2,5	„				

einer $^1/_2$ normalen H_2SO_4.

Wird der Stickstoffgehalt der ursprünglichen Nährlösung nach Kjeldahl bestimmt und der Stickstoffgehalt des gebildeten Alkalis unter der Annahme, daß es sich nur um Ammoniak handelt, berechnet, so ergibt sich, daß Bac. mycoides β 3,6 Proz. des vorhandenen Stickstoffes in Ammoniak überführt. Dies Ergebnis steht in strengem Widerspruch mit dem von Marchal (1894) angegebenen Verhalten, nachdem Bac. mycoides Flügge 46 Proz. des vorhandenen Stickstoffes in Ammoniak verwandelt.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Für eine Nachprüfung des Marchalschen Versuches müßte man die genaue Methode Marchals kennen. Leider ist aber die Originalarbeit nicht zu erhalten, und es mußte nach den kurzen Angaben der Referate der Versuch angestellt werden. Danach ist er jedoch bedauerlicherweise nicht auszuführen. Es sind daher weitere Versuche, vielleicht nach neuer Methode, nötig.

Literatur.

1) Belli, Chemische, mikroskopische und bakteriologische Untersuchungen über den Hagel. (Hyg. Rundschau. 1900.)
2) Blau, Oskar, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Bakterien, auch derjenigen mit hohen Temperaturminima. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 97.)
3) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1876. Heft 2.
4) Eisenberg, Bakteriologische Diagnostik. 3. Aufl. Hamburg und Leipzig 1891.
5) Emmerling, Chemische und bakteriologische Untersuchungen über die Gärung des frischen Grases. (Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXX. 1897. p. 1869.)
6) Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.
7) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Leipzig. 1896.
8) Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901.)
9) Grethe, Ueber die Keimung der Bakteriensporen. (Fortschritte der Medizin. 1897.)
10) Guilliermond, A., Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores. (Arch. f. Protistenkunde. 1908.)
11) Harrison, A bacterial rot of the potato, caused by Bacillus solanisaprus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 34.)
12) Hauser, Ueber Fäulnisbakterien und ihre Beziehung zur Septikämie. Leipzig 1885.
13) Hutchinson, Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907.)
14) Johan-Olsen, Zur Pleomorphismusfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 273.)
15) Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. III. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XXXV. 1900. Heft 1.)
16) Kolkwitz, Beiträge zur Kenntnis der Erdbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1899. p. 670.)
17) König, Der Tabak. Studien über seine Kultur und Biologie. Amsterdam und Leipzig 1900. (Ref. Centralb. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI.)
18) Lehmann und Neumann, Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 1907.
19) Marchal, Emile, The production of ammonia in the soil by microbes. (Agricult. Science. Vol. VIII. 1894. p. 574.) (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.)
20) Matzuschita, Teisi. Zur Physiologie der Sporenbildung der Bakterien, nebst Bemerkung zum Wachstum einiger Anaëroben. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. p. 267.)
21) — —, Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902.
22) Meyer, Arthur, Bakteriologisches Praktikum. 1903.
23) — —, Ueber Volutin. (Bot. Ztg. 1904.)
24) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900.
25) Mühlschlegel, Ueber die Bildung und den Bau der Bakteriensporen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
26) Neide, Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. [Diss.] Marburg 1904.
27) Schreiber, Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei Bac. anthracis, subtilis und tumescens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XX. 1896. p. 429.)
28) Stoklasa, Wurzelbrand der Zuckerrübe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
29) — —, Welchen Einfluß haben die Parasiten der Samenknäuel auf die Entwickelung der Zuckerrübe? (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 720.)
30) Zikes, Die Wachstumserscheinungen von Bacterium Zopfii auf Peptongelatine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI.)

Nachdruck verboten.

Studies in soil bacteriology. I[1].

Nitrification in soils and in solutions.

[Contributed from the North Carolina Agricultural Experiment Station
West Raleigh, N. C., U. S. A.]

By **F. L. Stevens** and **W. A. Withers,**
assisted by **J. C. Temple** and **W. A. Syme.**

Introductory.

Following the lead of Robert Koch in 1881 in the utilization of his gelatine plate method for enumeration of the bacterial flora of various soils, came a vast number of researches directed toward a determination of the numbers of bacteria in soils from various sources, depths, conditions etc., and much valuable information was gained as to the relative numbers of organisms obtaining in soils under different conditions. But it came to be recognized after a few years that the method of enumeration of bacterial flora by plate counts falls far short of furnishing the needed data for a proper understanding of the functions of bacteria in soils.

Attention was then directed toward methods, not to determine the number of bacteria in soils, but to determine the abundance or efficiency of the particular kinds of organisms that are known to be either beneficial or injurious to agricultural soils. This problem was essayed in two different ways by Remy in 1902[2], and Hiltner and Störmer in 1903[3].

The method of Remy consists in using as an inoculum weighed amounts, usually one to ten grams, of the soil under investigation and with this inoculating sterile solutions of various composition to ascertain the chemical changes effected in the solutions by the bacteria introduced with the inoculum. In this way, for example, a 1 % peptone solution is inoculated, and the amount of ammonia found at the end of a given number of days is taken as an indication of the ammonifying power of the soil. Similarly, solutions containing ammonium compounds are employed to gain an index of the nitrifying power, and Giltay's solution is used to measure the denitrifying power.

The method of Hiltner and Störmer consists in using solutions similar to those employed in Remy's method, but making in each analysis a series of inoculations with the inoculum varying from 1000 milligrams to 0,001 milligram of soil. Since in some instances the dilution used fails to cause reaction because the quantity of inoculum is so small as to contain none of the specific organisms in question, while in other instances there is reaction, indicating the presence of the organism, some conclusions are permissible as to the number of bacteria present of the particular kind in question in the inoculum used.

The method of Remy and that of Hiltner and Störmer and modifications of these methods, have been used in numerous investigations in soil bacteriology, and much knowledge has been gained as

---

[1] The facts set forth in this article were presented in substantially this same form at the seventh annual meeting of the North Carolina Academy of Science May 2, 1908. (See Science. Vol. XXVII. p. 988.)

[2] Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 657, 699, 728 and 761.

[3] Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens. Berlin 1903. p. 474. (Reprinted from Arb. d. K. Gesundheitsamts. Biol. Abt. Bd. III. 1903.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

to the abilities of the bacteria of the soil to effect changes of particular kinds in the solutions employed and under the conditions of the tests.

The use of soil itself as a culture medium in which to study the activities of bacteria under conditions of bacteriological control seems to have been singularly neglected and when employed, has been used only for special purposes [c. f. L. C. Coleman[1], and Bazarewski[2], who employed soil in physiological studies of nitrifying organisms, and Wimmer[3] and Hoffman[4]].

The object of soil bacteriology is to picture clearly the kinds and intensities of bacterial activity in the soil in order that the effects of cultural methods, fertilizers, crops etc., upon the bacterial flora and its efficiency may be known to the end that defects may be recognized and corrective measures employed.

That the methods of Remy, of Hiltner and Störmer and of their followers come much nearer to this ideal than mere colony enumeration, cannot be doubted, but that either of these methods very closely approximates actual occurrences in the soil itself is questionable. Conditions of bacterial life in solution and in soil may be, indeed, they certainly are, fundamentally different, and the most that can be said with assurance, when isolated species or natural or artificial composites of species, are inoculated into solutions of known composition and produce certain chemical changes, is that the organisms present bring about the changes noted under the conditions of the test, i. e., dealing with solutions of the artificial nature of those that are employed.

By such tests it has been noted that certain species of bacteria and certain live soils when placed in solution bring about nitrification, ammonification, denitrification etc. with certain degrees of intensity. It by no means follows of necessity that the same organisms when in soils, cause the same chemical changes, or if so, with the same intensities.

To picture adequately the functioning of soil bacteria, methods must be used which show as nearly as possible the effects as they are actually produced by bacteria in soils. To assume that bacterial changes produced in a solution represent the changes that would be caused by the same bacteria in a soil, is to base upon the hypothesis that the action of a given species of bacteria in a solution is the same in kind, and approximately the same in degree as is the action of the same species when in a soil.

Both upon a priori grounds and as the result of numerous observations during the past few years, we were lead to doubt the validity of this hypothesis[5]. A series of experiments was therefore instituted to test the question: "Do soil bacteria act in solutions the same as they do in soils". The results of these experiments, with other experiments of collateral bearing we here present and discuss.

We may state in advance that working with pure cultures as well as with soil composites, there is a great divergence in behavior of the same organisms when in soils and when in solutions as regards nitrification[1]), denitratation, and ammonification; that some species or races affect their chemical changes in each medium, some in one only, others to different degrees in different media.

---

[1] Untersuchungen über Nitrifikation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 401.)

[2] Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. [Diss.] Göttingen 1906.

[3] Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVIII. 1904. p. 160.

[4] Relation of soil bacteria to nitrogenous decomposition. (23rd Rept. Wis. Agr. Exp. Sta. 1906. p. 120.)

[5] Since the publication of the brief abstract of this paper in Science. Vol. XXVII. p. 988, Fraps, Bull. 106. Tex. Agr. Exp. Sta. p. 8, has noted that nitrification does not proceed in saturated soils and Lipman in his book "Bacteria in relation to country life", p. 338 says that "With too much (moisture) nitrification was suspended". Failure to nitrify in an almost "water logged" sand was also noted by Hoffman, 23rd Rept. Wis. Agr. Exp. Sta.

Bacteriological methods.

In all instances strict bacteriological precautions were taken to avoid contamination of the test cultures. In cases of composite or crude inoculations with soil, the soil to be used was taken with aseptic precautions and the water, media, glass ware etc. were sterile. Unless otherwise stated, the cultures were in cotton-stoppered, Erlenmeyer flasks, and were kept in a dark incubator room at a temperature varying from 30° to 35°. Calcium carbonate was added to all cultures, 400 grams (air dry weight) of soil were used with water sufficient to render one-third saturated, unless otherwise stated.

Before sterilizing, the soil and nitrogenous material (except asparagin) were mixed, the water content made as desired, and the whole flasked, plugged, autoclaved for 1 hour at 120° and inoculated as desired. To sterilize asparagin a definite amount was weighed into a graduated flask, and enough ether added to cover the asparagin. After twenty-four hours the ether was evaporated, sterile water added, the asparagin dissolved and made up to a definite volume. The desired amount of this solution was taken with a sterile pipette.

When it was desired to absorb solutions by soil, the soil to be used was dried in an air bath at 100—105°, then 200 or 400 grams of this soil were flasked, plugged, sterilized, and the solution to be absorbed, previously inoculated, was poured upon it.

Three methods of inoculation have been employed: 1st the desired quantity of fresh soil (the inoculum) was poured into the flask on top of the soil to be inoculated and mixed by thorough shaking. 2nd, the soil inoculum was weighed into a flask containing the nutrient solution and this mixture poured into the soil medium in the flask and mixed. 3rd, a bacterial suspension was secured by adding 100 grams of soil to 200 c. c. of sterile water and shaking three minutes. Inoculations were then made with the desired amount of the suspension.

Chemical methods.

Soil extract. To the sample of 400 grams of soil were added 10 c. c. of chloroform and water sufficient with that originally in the soil to make 1200 c. c. Shaking in a shaking machine was continued for four hours. After standing over night, the solution was (1) poured off if sufficiently clear, or (2) filtered through a Pasteur-Chamberland filter[2]), or (3) after an aliquot part had been taken for the ammonia determination, the remainder was treated with lime and carbon black and filtered after precipitating the lime with a current of carbon dioxide.

Ammonia. When nitrogen was added in the form of ammonium, sulphate, it was expelled by boiling with a solution of sodium hydroxide. When it was added in organic forms, it was expelled by boiling in

---

1) Throughout this article we employ the term "nitrification" which has by many writers been used in many divers ways, in what seemed its most logical meaning, to designate the change of ammoniacal nitrogen to nitrate nitrogen, and the term nitritation and nitratation to mean respectively change to nitrite and nitrate, as has been done by Winogradsky. The term denitratation is introduced to designate change from the nitrate to some other form containing less oxygen.

2) Bureau of soils U. S. Dept. Agr. Bull. No. 31. 1906. p. 12.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

presence of magnesium oxide. In either case the distillate was collected in one-fifth normal hydrochloric acid and titrated with one-tenth normal ammonium hydroxide solution using cochineal as an indicator.

When the amount of nitrogen was less than the equivalent of 0,1 c. c. of one-tenth normal ammonium hydroxide solution, the ammonia was liberated and collected in the same manner but the amount was determined by Nessleriring.

Nitrites and nitrates. The clarified solution was tested with diphenylamine[1]) which shows as little as one part of nitrogen in the form of nitrite or nitrate in twenty millions or 0,05 milligrams nitrogen in one liter. In the case of soils where the dilution of the solution was approximately twenty times, the method would show 0,1 milligrams nitrogen in 100 c. c. of soil solution or about 0,06 milligrams in 400 grams of soil.

Nitrites. The sulphanilic acid method of Griess[2]) was used for nitrites.

Nitrates. Nitrates were usually determined by the Tiemann-Schulze method[3]) deduction being made for nitrites. When the amount of nitric oxide liberated was small, a correction was made for the amount insoluble in a concentrated solution of ferrous sulphate.

When the amount of nitrogen in the form of nitrates was very small, it was estimated by the phenol-disulphonic acid method[4]).

Explanation of the Tables.

The amounts of ammonia, nitrites and nitrates are expressed in terms of the element nitrogen.

The amounts of nitrogen found at the end of the experiment in different forms of combinations are expressed in terms of percentages of the nitrogen added at the beginning of the experiment and in terms of milligrams in 100 c. c. of solution. In the case of soil, unless otherwise stated, the total amount of water present with 400 grams of soil was 60 c. c., which was sufficient for one-third saturation. In preparing the samples for experiment, the amount of water added was sufficient, together with that originally present in the soil, to make 60 c. c. approximately.

Nitrification in soils and in solutions.

Experiment No. 32. 400 grams of soil No. 1866 from the bed of the greenhouse were placed in a litre Erlenmeyer flask, water containing ammonium sulphate to amount to 240 milligrams of nitrogen was added to make one-third saturation. Another flask was similarly prepared, except that the nitrogen was in the form of cottonseed meal. Checks, i. e., flasks similarly prepared, but sterile, were provided in each instance. The flasks were kept in the incubator room four weeks at 30—35 °.

At the same time Omelianski's solution[5]) containing ammonium sulphate was inoculated with 5 grams of the same soil and maintained under the same conditions as were the soil cultures. The results appear in table 1.

---

[1]) Treadwell Analytical Chemistry. Vol. I. 1906. p. 341.

[2]) Bul. Soc. Chim. Ser. 3. Vol. II. 1889. p. 347 or Bureau of Soils U. S. Dept. Agr. Bul. No. 31. 1906. p. 41.

[3]) Treadwell Anal. Chem. Vol. II. 1904. p. 360. — Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. XIV. 1870. p. 401.

[4]) J. Am. Chem. Soc. 1896. p. 16, 122, 193 and Bureau of Soils U. S. Dept. Agr. Bul. No. 31. 1906. p. 39.

[5]) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 537—549.

Table 1. Showing nitrification of both ammonium sulphate and cottonseed meel in soils but not in solution.

Conditions of experiment 32.

Sample No.	Date of inoculation	Days from inoculation to analysis	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form
1902	10/17/07	28	Live soil 1866	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
1903	„	28	Sterile soil 1866	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
1904	„	28	Live soil 1866	400	—	—	240	C. S. M.
1905	„	28	Sterile soil 1866	400	—	—	240	C. S. M.
1905a	„	28	Omelianskis solution	300	Soil 1866	5	127,3	$(NH_4)_2SO_4$

Results of analysis. Experiment 32.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams of nitrogen in 100 cc. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
1902	10,00	90,00	34,00	tr.	56,00	40,0	360,0	136,0	tr.	224,0
1903	12,40	87,60	82,00	0,20	5,60	49,6	350,4	328,0	0,8	22,4
net	—	—	—	0,00	50,40	—	—	—	0,0	201,6
1904	54,00	46,00	0,00	tr.	46,00	216,0	184.0	0,0	0,0	184,0
1905	100,00	—	—	0,00	0,00	400,0	0,0	0,0	0,0	0,0
net	—	—	—	—	46,00	—	—	—	0,0	184,0
1902a	—	—	0,00	—	—	—	—	0,0	—	—

C. S. M. = cottonseed meal.

It is here evident from the soil tests both with ammonium sulphate and with cottonseed meal that this soil is in vigorous nitrifying condition, yet the tests by inoculation into solution give no indication of the presence of nitrate, even by diphenylamine capable of indicating one part in two millions of nitrate. It may be added that this soil has never nitrified in solution sufficiently to give the diphenylamine reaction, though in soil tests it has repeatedly showed itself to be in reality a vigorous nitrifier.

The entire absence of ammonia in the cultures with cottonseed meal was so striking and unexpected that the samples were again analyzed, Dec. 5th, with confirmation of the fact that neither of the cottonseed meal flasks contained ammonia.

This raised the question whether the soil under study had any ammonifying power and tests were made, employing both peptone and cottonseed meal separately and inoculating with soil 1866. Each when tested at the end of eight days gave a considerable amount of ammonia, showing the soil to be in normal ammonifying condition. The only probable explanation of the absence of ammonia in this instance is that it was consumed by the nitrite organisms as fast as it was made. It appears also that the nitrite was likewise consumed by the nitrate organisms equally fast.

Experiment No. 34. Three samples of soils No. 1667, 1867 and plat 10, 400 grams each, were taken. The soil was made to one-third saturation with water carrying 240 milligrams of nitrogen either as ammonium sulphate or as cottonseed meal. Simultaneous inoculations were made into Omelianski's ammonia solution, using 5 grams of soil as the inoculum. All were done in duplicate. The results are given in table 2.

Table 2. **Showing nitrification of both ammonium sulphate and cottonseed meal by soil No. 1867 in soil but not in solution.**

Conditions of experiment 34.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
1909	10/30/07	28	Live soil 1667	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
1910	„	28	„ „ 1667	400	—	—	240	C. S. M.
1911	„	28	„ „ plat 10	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
1912	„	28	„ „ plat 10	400	—	—	240	C. S. M.
1913	„	28	„ „ 1867	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
1914	„	28	„ „ 1867	400	—	—	240	C. S. M.
1909a	„	28	Omelianski's solut.	300	Soil 1667	5	127,3	$(NH_4)_2SO_4$
1911a	„	28	„ „	300	Soil plat 10	5	127,3	$(NH_4)_2SO_4$
1913a	„	28	„ „	300	Soil 1867	5	127,3	$(NH_4)_2SO_4$

Results of analysis. Experiment 34.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
1909	12,20	87,80	87,80	tr.	0,00	73,2	526,8	526,8	tr.	0,0
1910	81,50	18,50	18,50	„	0,00	489,0	111,0	111,0	„	0,0
1911	20,70	79,30	79,30	„	0,00	124,2	475,8	475,8	„	0,0
1912	82,40	17,60	17,60	„	0,00	494,4	105,6	105,6	„	0,0
1913	1,70	98,30	42,10	„	56,20	6,8	393,2	168,4	„	224,8
1914	7,30	92,30	42,10	„	50,20	29,2	370,8	168,4	„	200,8
1909a	—	—	0,00	„	0,00	—	—	0,0	—	—
1911a	—	—	0,00	„	0,00	—	—	0,0	—	—
1913a	—	—	0,00	„	0,00	—	—	0,0	—	—

C. S. M. = cottonseed meal.

It is noted in this instance two of the three samples failed utterly to nitrify either in soil or in solution, but that one sample, soil No. 1867, nitrified strongly in soil though not at all in solution. This soil itself was known to be nearly free from nitrates.

Experiment No. 108. Two soils were inoculated in duplicate into soils and at the same time in duplicate into Omelianski's solution. The results in table 3 give another instance of failure to nitrify in solutions though nitrification in soil was vigorous. Though no checks were run, it is known that soil 193, contained practically no nitrate and that the nitrate shown in this table is the result of nitrification during the experiment.

(See Table 3 p. 361.)

Experiment No. 72. Cultures were tested by using soil extract as a medium, to ascertain whether some deficiency in the chemical constitution of the solutions used, which might not exist in soil extract itself, was responsible for the failure to nitrify in solutions.

Tests were alse made in Wiley's solution[1]) and Omelianski's solution using 10 grams of inoculum.

The results at the end of four weeks are given in table 4.

(See Table 4 p. 361.)

---

[1]) Wiley, Yearbook of U. S. Dept. Agr. 1895. p. 97.

Table 3. Showing failure to nitrify in solution but vigorous nitrification in soils.
Conditions of experiment 108.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
2546	8/24/08	28	Live soil 1931a	400	—	—	240	$(NH_4)_2SO_4$
2547	„	28	Live soil 1931a	400	—	—	240	„
2548	„	28	Omelianski's solut.	377,12	Suspension of soil 1931a	10	160	„
2549	„	28	Omelianski's solut.	377,12	Suspension of soil 1931a	10	160	„
2550	„	28	Live soil 1931b	400	—	—	240	„
2551	„	28	Live soil 1931b	400	—	—	240	„
2552	„	28	Omelianski's solut.	377,12	Suspension of soil 1931b	10	160	„
2553	„	28	Omelianski's solut.	377,12	Suspension of soil 1931b	10	160	„

Results of analysis. Experiment 108.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2546	—	—	66,52	0,34	3,38	—	—	133,0	0,7	6,8
2547	—	—	67,78	1,50	8,45	—	—	135,6	3,0	16,9
aver.	26,93	73,07	67,15	0,92	5,92	53,9	146,1	134,3	1,8	11,8
2548	—	—	93,78	0,00	0,00	—	—	39,8	0,0	0,0
2549	—	—	96,36	0,00	0,00	—	—	40,9	0,0	0,0
aver.	4,93	95,07	95,07	0,00	0,00	2,1	40,4	40,4	0,0	0,0
2550	—	—	53,91	0,85	33,20	—	—	107,8	1,6	66,4
2551	—	—	62,46	0,88	7,39	—	—	124,9	1,8	14,6
aver.	21,68	78,32	58,18	0,87	20,24	42,7	157,3	116,3	1,7	41,0
2552	—	—	93,60	0,00	0,00	—	—	39,8	0,0	0,0
2553	—	—	94,38	0,00	0,00	—	—	40,1	0,0	0,0
aver.	6,12	93,98	93,98	0,00	0,00	2,6	39,9	39,9	0,0	0,0

Table 4. Showing better nitrification in soil than in soil extract or in the usual culture solutions.
Conditions of experiment 72.

ample No.	Date of inoculation	Days from inoculation to analysis	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
2046	2/10/08	28	Sterile soil 1867	390	Soil 1867	10	240	$(NH_4)_2SO_4$
2047	„	28	Sterile soil 1867	390	„ 1867	10	240	„
2048	„	28	Omelianski's solut.	300	„ 1867	10	127,3	„
2049	„	28	Wiley's solution	300	„ 1867	10	12,73	„
2050	„	28	Extract of soil 1867	300	„ 1867	10	127,3	„
2054	„	28	Omelianski's solut.	300	„ 1867	0,2	127,3	„
2055	„	28	Wiley's solution	300	„ 1867	0,2	12,73	„

Results of analysis. Experiment 72.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2046	19,00	81,00	59,50	0,10	21,50	76,0	324,0	238,0	0,0	86,0
2047	10,00	90,00	64,40	0,00	25,60	40,0	360,0	257,6	0,0	102,4
aver.	14,50	85,50	61,95	0,05	23,55	58,0	342,0	247,8	0,0	94,2
2048	1,20	98,80	97,00	0,00	1,80	0,5	42,0	41,2	0,0	0,8
2049	12,90	87,10	42,90	0,00	44,20[2]	0,6	3,7	1,8	0,0	1,9
2050	5,70	94,30	81,20	0,10	13,10	2,4	40,1	34,5	tr.	5,6
2054	12,20	87,80	87,10	0,00	0,70	5,5	37,0	37,0	0,0	tr.
2055	9,70[1]	109,70	102,30	0,00	7,40[2]	0,4[1]	4,7	4,4	0,0	0,3

The contrast is here again strong between soil cultures Nos. 2046, 2047, which either upon a basis of percentage of nitrification or upon a basis of milligrams nitrified per c. c. of solution show a much greater nitrification than culture in Omeliansky's solution (Nos. 2048 and 2054), which practically failed to nitrify at all. While the percentage of nitrification in Nos. 2049 and 2055 in Wiley's solution is high, this is not significant since the absolute amount of nitrates is so small as to be almost negligible, c. f. initial amounts of nitrogen present. A more nearly correct comparison regarding the nitrifying power of these numbers is shown in the last column with only slight nitrification in the liquid medium. While there was nitrification in the soil extract No. 2050, it fell far short of that occurring in the soil itself. While this experiment taken alone would tend to indicate that soil extract contains something favorable to nitrification which is lacking in the artificial solutions, this conclusion is not supported by other evidence. The conclusion that soil as a medium furnishes a much more sensitive means for detection of nitrification than do the usual solutions, is however supported by the evidence throughout.

Experiment No. 72 (later.), Duplicate cultures of this experiment were analyzed again at the end of 64 days. During this additional time some slight nitrification had occurred in the cultures which showed no nitrification at first analysis, but the superiority of soil as a medium for nitrification is even more apparent at the second than at the first analysis, c. f. Tables 4 and 5 last column.

(See Table 5 p. 363.)

Basing nitrification upon the amount of nitrate produced per 100 c. c. of solution, it is seen that the process is 68 times as rapid in the soil water in situ as it is in Omelianski's or Wiley's solutions and 39 times as fast as it is in an extract of the same soil.

It seems clear from this experiment that not only are results of four week tests in solutions such as those of Wiley, Omelianski or Ashby worthless as indicative of the nitrifying powers of soils tested by them, but that results which are negative at the end of four weeks may indicate some nitrification if the cultures be allowed to stand for longer time.

Experiment No. 73: To 400 grams each of live soils Nos. 1867,

---

[1] Excess.

[2] This percentage has slight significance because of the small amount of initial nitrogen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Table 5. Showing results of nitrification tests in solutions and in soils at 64 days.
Conditions of experiments 72.

Sample No.	Date of inoculation	Days of incubation	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
2165	2/10/08	64	Sterile soil 1867	390	soil 1867	10	240	$(NH_4)_2SO_4$
2166	„	64	Sterile soil 1867	390	„	10	240	„
aver.								„
2167	„	64	Omelianski's solution	300	„	10	127,3	„
2168	„	64	Wiley's solution	300	„	10	12,73	„
2169	„	64	Extract of soil 1867	300	„	10	127,3	„
2173	„	64	Omelianski's solution	300	„	0,2	127,3	„
2174	„	64	Wiley's solution	300	„	0,2	12,73	„

Results of analysis. Experiment 72.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2165	6,80 1)	106,80	30,80	0,00	76,00	27,2 1)	427,2	123,2	0,0	304,0
2166	1,20 1)	101,20	23,80	0,00	77,40	4,8 1)	404,8	95,2	0,0	309,6
aver.	4,00 1)	104,00	27,30	0,00	76,70	16,0 1)	416,0	109,2	0,0	306.8
2167	3,00 1)	103,00	92,40	0,00	10,60	1,3 1)	43,8	39,3	0,0	4,5
2168	3,40	96,60	6,60	0,00	90,00 2)	0,2	4,1	0,3	0,0	3,8
2169	4,70	95,30	77,20	0,00	18,10	2,0	40,5	32,8	0,0	7,7
2173	6,90 1)	106,90	97,70	1,30	9,20	2,8 1)	45,3	41,4	0,6	3,9
2174	1,60 1)	101,60	26,40	tr.	75,20 2)	0,1 1)	4,3	1,1	tr.	3,2

1667, 2069 were added in the usual way 240 milligrams of nitrogen as cottonseed meal.

Flasks of Omelianski's and of Wiley's solutions were also inoculated with each of these soils. Determinations were made upon all after 4 weeks' incubation.

The results are presented in table 6.

Table 6. Showing nitrification in soils, not in sulutions.
Conditions of experiment 73.

Sample No.	Date of inoculation	Time incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form
2060	2/13/08	28	Live soil 1867	400	—	—	240	C. S. M. 3)
2057	„	28	Sterile soil 1867	400	—	—	0,12	„
2061	„	28	Live soil 1667	400	—	—	240	„
2058	„	28	Sterile soil 1667	400	—	—	0,12	„
2062	„	28	Live soil 2069	400	—	—	240	„
2059	„	28	Sterile soil 2069	400	—	—	0,12	„
2063	„	28	Wiley's solution	300	Soil 1867	0,2	12,7	$(NH_4)_2SO_4$
2064	„	28	„ „	300	„ 1667	0,2	12,7	
2065	„	28	„ „	300	„ 2069	0,2	12,7	„
2066	„	28	Omelianski's solution	300	„ 1867	0,2	127	„
2067	„	28	„ „	300	„ 1667	0,2	127	„
2068	„	28	„ „	300	„ 2069	0,2	127	„

---

1) Excess.

2) These percentages have small significance because of the small amount of nitrogen.

3) C. S. M. — cottonseed meal.

Results of analysis. Experiment 73.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. sol.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2060	—	—	—	—	—	155,6	244,4	14,0	0,0	230,4
2057	—	—	—	—	—	0,4	2,4	2,4	0,0	1,6
net	39,90	60,10	2,90	0,00	57,20	158,0	242,0	11,6	0,0	228,8
2061	—	—	—	—	—	318,0	82,0	78,4	0,0	3,6
2058	—	—	—	—	—	1,0	1,0	0,6	0,0	0,4
net	79,75	20,25	19,45	0,00	0,80	319,0	81,0	77,8	0,0	3,2
2062	—	—	—	—	—	260,0	140,0	33,6	6,4	106,4
2059	—	—	—	—	—	1,3	0,7	0,3	0,0	0,4
net	65,18	34,82	8,32	1,60	24,90	260,7	139,3	33,3	6,4	99,6
2063	41,00	59,00	0,00	3,60	59,00	1,8	2,5	0,0	0,2	2,5
2064	41,90	58,10	33,00	0,00	25,10	1,8	2,5	1,4	0,0	1,1
2065	50,10	49,90	39,60	tr.	10,30 1)	2,2	2,1	1,7	tr.	0,4
2066	55,10	44,90	40,90	0,20	4,00	23,4	19,1	17,4	„	1,7
2067	61,40	38,60	37,60	tr.	1,00	26,1	16,4	16,0	„	0,4
2068	50,90	49,10	48,10	„	11,00	21,7	20,8	20,4	„	0,4

In the last column of the table it is noted that the soils 1867 and 2069 gave a large nitrification in soil but a nearly negligible qantity in Omelianski's or Wiley's solutions, while the third soil failed to nitrify to any extent in any medium.

Making proper allowance for the very small quantity of initial nitrogen in Omelianski's and Wiley's solutions, the same conclusion is reached from the percentage of nitrogen recovered as nitrates. Two of the soils could nitrify vigorously in soils but only sligthly in solutions.

Experiment No. 69a. Four cultures were made; two in soils, one with peptone and one with cottonseed meal; two in solutions, one with peptone and one with cottonseed meal. They were inoculated in parallel with the same bacterial suspensions from soil No. 1867. Analysis on the 14th day gave the results shown in table 7.

Table 7. Showing nitrification in 14 days in soils, not in solutions.
Conditions of experiment 69a.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
2025	2/10 08	14	Sterile soil 1867	490	Soil 1867	10	120	Peptone
2026	„	14	„ „ 1867	490	„ 1867	10	120	C. S. M.
2027	„	14	Peptone water	200	„ 1867	10	60	Peptone
2028	„	14	C. S. M. water	200	„ 1867	10	60	C. S. M.

Results of analysis. Experiment 69a.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2025	51,60	48,40	11,20	1,50	37,20	103,2	96,8	22,4	3,0	74,4
2026	66,30	33,70	2,80	1,50	30,90	132,6	67,4	5,6	3,0	61,8
2027	29,60	70,40	70,40	0,00	0,00	8,9	21,1	21,1	0 0	0,0
2028	61,70	38,30	28,30	0,00	0,00	18,5	11,5	11,5	0,0	0,0

C. S. M. = cottonseed meal.

---

1) Not significant on account of the very small amount of initial nitrogen.

While nitrification progressed to marked extent in both soil cultures, the solutions gave no reaction with diphenylamine. Though no checks were run with this test to determine the amounts of nitrates in these soils, our constant experimentation with them and frequent analysis assure us that there was barely a trace, or no nitrate at all, present in the soil when the experiment was set up. The amount shown by the analyses is due to nitrification during the experiment.

Experiments 56 and 57. It seemed possible that the amount of inoculum used might be an important factor in determining the amount, or at least the rapidity, of nitrification in early stages of incubation. To throw light upon this point, parallel cultures were made by mixing the same soil, sterile and alive, in different proportions, thus varying practically only one factor, the quantity of live organism present. Experiment 56 consisted of such a series with nitrogen supplied in the form of ammonium sulphate; experiment 57, with nitrogen in the form of cottonseed meal.

The results are given in the tables 8 and 9.

Table 8. Showing influence of quantity of bacteria upon rapidity of nitrification.

Conditions of experiment 56.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
1962	12/2/08	28	Sterile soil 1867	390	soil 1867	10	240	$(NH_4)_2SO_4$
1963	,,	28	,, ,, 1867	350	,, 1867	50	240	,,
1964	,,	28	,, ,, 1867	300	,, 1867	100	240	,,
1965	,,	28	,, ,, 1867	200	,, 1867	200	240	,,
1966	,,	28	Live soil 1867	400	,, —	—	240	,,
1967	,,	28	Sterile soil 1867	400	,, —	—	240	,,

Results of analysis. Experiment 56.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
1962	—	—	60,90	0,20	lost	—	—	243,6	0,8	lost
1963	29,90	71,10	53,20	0,20	17,90	115,6	284,6	212,8	0,8	71,6
1964	34,20	65,80	42,70	0,20	23,10	136,8	263,2	170,8	0,8	97,4
1965	21,40	78,60	44,10	0,20	34,50	85,6	314,4	176,4	0,8	138,0
1966	4,60 1)	104,60	12,60	0,20	91,80	17,6 1)	417,6	50,4	0,8	367,2
1967	31,20	68,60	68,60	0,20	0,00	124,8	275,2	274,4	0,8	0,0

Table 9. Showing influence of quantity of bacteria upon rapidity of nitrification of cottonseed meal.

Conditions of experiment 57.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form
1968	12/5/08	28	Sterile soil 1867	390	Soil 1867	10	240	C. S. M.
1969	,,	28	,, ,, 1867	350	,, 1867	50	240	,,
1970	,,	28	,, ,, 1867	300	,, 1867	100	240	,,
1971	,,	28	,, ,, 1867	200	,, 1867	200	240	,,
1972	,,	28	Live soil 1867	400	—	—	240	,,
1973	,,	28	Sterile soil 1867	400	—	—	240	,,

---

1) Excess.

Results of analysis. Experiment 57.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c.c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
1968	76,20	23,80	17,50	tr.	6,30	304,8	95,2	70,0	tr.	25,2
1969	70,10	29,90	13,30	„	16,60	280,4	119,6	53,2	„	66,4
1970	74,50	25,50	22,40	„	3,10	298,0	102,0	89,6	„	12,4
1971	60,20	39,80	4,90	„	34,90	240,8	159,2	19,6	„	139,6
1972	53,60	47,00	0,00	„	47,00	212,0	188,0	0,0	„	188,0
1973	97,50	2,50	0,00	„	2,50	390,0	10,0	0,0	„	10,0

C. S. M. = cottonseed meal.

In table 8 there is shown a remarkably regular increase in nitrification as the quantity if inoculum increases. In table 9 where cottonseed meal was used, if the third number be disregarded, the same relation holds true. The descrepancy in the behavior of No. 1970 is inexplicable, but it probably does not vitiate the general conclusions supported by these two experiments, viz., that with increase in the inoculum there is nearly a corresponding increase in the total amount of nitrification at the end of four weeks.

When tests of nitrifying power are made in the soil itself by adding the material to be nitrified directly to the soil, it is evident that there is initially a much larger number of organisms than when 200 milligrams or even 10 grams of the soil are used as an inoculum. We may regard the direct soil tests in our work as having the equivalent of an inoculum of 400 grams.

The idea that increase in the quantity of the inoculum brings increase in nitrification arouses the suspicion that perhaps the low nitrification, or entire failure to nitrify, found by the Ashby[1]) method with an inoculum of only 200 milligrams of soil, may be due to the smallness of the inoculum used.

Experiment No. 58 was set up to test this point: to determine whether the failure to nitrify in solutions can fairly be attributed to the smallness of the inoculum used.

A series of tests was made in solutions varying the amount of inoculum. In order to maintain conditions as nearly parallel as possible, the quantity of soil used in each case was the same, a larger or smaller amounts of it being sterilized to give the desired variation in the number of live organisms present.

Thus in No. 1974, 399,5 grams ofs terile soil + 0,5 grams of the same live soil were used, while in No. 1979, 0 grams of sterile soil + 400 grams of live soil were used. The other numbers gave intermediate conditions. Solutions sufficient to cover the soil to a depth of 2,5 cm was employed in each case, the solution also carrying nitrogen at the rate of 240 milligrams per 400 c.c. The culture was frequently shaken, sampled, and tested by diphenylamine with negative results. At the end of four weeks, analysis was also made with still no nitrification, as is shown in table 10.

(See Table 10 p. 367.)

A comparison of these results with those of experiments 56 and 57 which were inoculated with the same soils, brings out again clearly the

---

1) Journ. Chem. Soc. Vol. LXXXXV. p. 1158.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Table 10. Showing no nitrification in solutions even when very large inoculum was used.

Conditions of experiment 58.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form
1974	12/12/07	28	Sterile soil 1867 Water	399,5 200	Soil 1867	0,5	360	C. S. M.
1975	„	28	Sterile soil 1867 Water	300 200	„ 1867	100	360	„
1976	„	28	Live soil 1867 Water	400 200		—	360	„
1977	„	28	Sterile soil 1867 Water	399,5 200	„ 1867	0,5	360	$(NH_4)_2SO_4$
1978	„	28	Sterile soil 1867 Water	300 200	„ 1867	100	360	„
1979	„	28	Live soil 1867 Water	400 200		—	360	„

Results of analysis. Experiment 58.

No.	Percentage of initial nitrogen					Miligrams nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
1974	70,60	29,40	29,40	0,00	0,00	97,8	40,7	40,7	0,0	0,0
1975	48,90	51,10	51,10	tr.	0,00	67,7	70,8	70,8	tr.	0,0
1976	78,30	21,70	21,70	0,00	0,00	108,4	30,1	30,1	0,0	0,0
1977	45,40	54,60	54,60	0,00	0,00	62,9	75,6	75,6	0,0	0,0
1978	lost	lost	lost	lost	0,00	lost	lost	lost	lost	0,0
1979	43,20	56,80	56,70	tr.	0,00	60,0	78,5	78,5	tr.	0,0

C. S. M. = cottonseed meal.

failure of the soil to nitrify at all in the solutions, although the same soil can nitrify vigorously in the same period of time, as is shown by actual soil tests.

Experiment No. 58 demonstrates conclusively that the differences existing between results of cultures in soils and in solutions are not to be explained by the differences in the quantities of inoculum used.

Experiment 211. It being demonstrated that the water relation is a very important one as regards nitrification, and that nitrification proceeds not at all, or very slightly in solutions, during the time of our experiments with the soils under consideration, but vigorously in soil itself, it became desirable to determine whether nitrification can proceed in a saturated soil as well as in soils of less water content. To this end cultures in three different soils were prepared, some bearing water to $^1/_3$, $^2/_3$, and some to complete saturation. The cultures were inoculated with a suspension of soil 1867.

The results are given in table 11.

Table 11. Showing failure to nitrify in saturated soils. Nitrogen 240 mgs. as $(NH_4)_2SO_4$.

Conditions of experiment 211. Results of analysis. Experiment 211.

Sample No.	Date of inoculation	Days from inoculation to analysis	Medium		Inoculum		No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. soil				
			Kind	Amount	Kind	Amount		Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
										Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2621	9/10/08	28	Sterile soil 1549 Water to $^2/_3$ saturation	400 60	Suspension of soil No. 1867	10 c. c.	2621			24,51	2,25	24,29			98,0	9,0	97,2
2622	„	28	Sterile soil 1549 Water to $^2/_3$ saturation	400 60	idem	10 „	2622			24,09	3,37	26,08			96,4	13,5	104,3
							aver.	50,52	49,48	24,30	2,81	25,18	202,1	197,9	97,2	11,3	100,7
2623	„	28	Sterile soil 1549 Water to saturation	400 100	idem	10 „	2623			50,41	0,10	0,00			121,0	0,3	0,0
2624	„	28	Sterile soil 1549 Water to saturation	400 100	idem	10 „	2624			52,79	0,10	0,00			125,4	0,3	0,0
							aver.	48,30	51,70	51,60	0,10	0,00	116,5	123,5	123,2	0,3	0,0
2627	„	28	Sterile soil 1783 Water to $^2/_3$ saturation	400 100	idem	10 „	2627			16,80	0,25	23,82			40,3	0,6	57,2
2628	„	28	Sterile soil 1783 Water to $^2/_3$ saturation	400 100	idem	10 „	2628			22,41	0,37	22,86			53,8	0,9	54,8
							aver.	57,06	42,94	19,60	0,31	23,33	134,9	103,1	47,1	0,8	56,0
2629	„	28	Sterile soil 1783 Water to saturation	400 144	idem	10 „	2629			63,02	0,10	0,00			105,0	0,2	0,0
2630	„	28	Sterile soil 1783 Water to saturation	400 144	idem	10 „	2630			57,42	0,12	0,00			95,7	0,2	0,0
							aver.	39,67	60,33	60,22	0,11	0,00	66,2	100,5	100,3	0,2	0,0
2631	„	28	Sterile soil 1931 Water to $^1/_3$ saturation	400 60	idem	10 „	2631			35,01	0,23	44,79			140,0	0,9	179,2
2632	„	28	Sterile soil 1931 Water to $^1/_3$ saturation	400 60	idem	10 „	2632			26,01	0,23	46,67			126,4	0,9	186,7
							aver.	23,76	76,24	30,51	0,23	45,73	84,0	316,0	133,2	0,9	182,8
2635	„	28	Sterile soil 1931 Water to saturation	400 180	idem	10 „	2635			43,41	0,10	tr.			57,9	0,1	tr.
2636	„	28	Sterile soil 1931 Water to saturation	400 180	idem	10 „	2636			45,51	0,10	tr.			60,7	0,1	tr.
							aver.	55,44	44,56	44,46	0,10	tr.	73,9	59,4	59,3	0,1	tr.

It is seen that there was no trace of nitrification in the saturated soil in the case of two soils and only a trace with the other soil though nitrification proceeded well in all soils when of $^2/_3$ or $^1/_3$ saturation.

In order to have a still more crucial test of nitrifying activity in soil as compared with that in solution, two portions of Omelianski's solution were prepared in the usual way, inoculated; one lot was incubated as a solution, the other portion was absorbed by sterile soil of such quantity as to render the culture about two-thirds saturated. Also an extract of soil with ammonium sulphate added to it in the usual quantity was inoculated and similarly mixed with soil. Suitable control cultures were set up. The results are given in Table 12.

Table 12. Showing amount of nitrification in solution and in the same solution absorbed by soils.

Conditions of experiment 70.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form.
2034	2/3/08	28	Omelianski's solut.	240	Soil 1867	10	101,8	$(NH_4)_2SO_4$
2035[1])	„	28	Sterile soil 1867	400	Soil 1867	5	50,9	„
2036	„	28	Extract of soil 1867	240	Soil 1867	10	101,8	„
2038	„	28	Extract of soil 1867	240	„		101,8	„
2037[1])	„	28	Sterile soil 1867	400	Soil 1867	5	50,9	„
2039	„	28	Sterile soil 1867	400	„		50,9	„

Results of analysis. Experiment 70.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams of nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2034	21,60	78,40	53,50	tr.	24,90	9,2	33,3	22,7	tr.	10,6
2035	14,01[2])	114,00	0,00	0,00	114,00	6,0[2])	48,5	0,0	0,0	48,5
2036	37,20	62,80	47,20	1,60	14,00	16,5	26,0	20,0	0,7	6,0
2038	95,70	4,30	0,00	0,40	3,90	40,8	1,7	0,0	0,2	1,7
net	—	—	—	1,20	10,10	—	—	—	0,5	4,3
2037	11,60[2])	111,60	0,00	0,00	111,60	4,9	47,4	0,0	0,0	47,4
2039	58,50	41,50	19,80	0,00	21,70	24,9	17,6	8,4	0,0	9,2
net	—	—	—	0,00	89,90	—	—	—	0,0	38,2

It is seen from the first two numbers that on making proper allowances for the results of the control cultures, nitrification was vastly greater in the solution absorbed by soil than in the same solution not so absorbed, a conclusion which is clearly justified either by basing nitrification upon a percent basis or on the amount of nitrate produced per 100 c. c. of liquid in the medium.

---

1) In 2035, 120 c. c. of Omelianski's solution were inoculated with 5 g of soil 1867 and then poured over 400 g of sterile soil. In 2037, 120 c. c. soil extract + ammonium sulphate were inoculated and then poured on soil in similar manner.

2) Excess.

Nitrifying sewer organisms.

Small quantities of nitrifying earth from the sewer beds of Lawrence, Mass. were obtained through the kindness of Dr. Steven De M. Gage. These samples, thrown into ammonium sulphate solution, nitrified vigorously from the start. A quantity of finely ground coke was placed in a percolator, inoculated with this nitrifying sewer bed material and ammoniacal solution poured through it once or twice daily. In this manner the coke of the percolator soon came to a still more vigorous nitrifying condition.

The effluent from this percolator formed excellent inoculating material for nitrification.

Experiment No. 72. Inoculations were made into soil and into soil extract with the nitrifying effluent from the coke-filled percolator bearing the sewer organisms. The cultures were analyzed at the end of 28 days with the results shown in Table 13.

Table 13. Showing nitrification by sewer organisms in soil and in solution.
Conditions of experiment 72.

Sample No.	Date of inoculation	Time of incubation days	Medium		Inoculum		Initial nitrogen	
			Kind	Grams	Kind	Grams	Milligrams	Form
2051	2/8/08	28	Sterile soil 1867	390	Percolator effluent	10	240	$(NH_4)_2SO_4$
2052	„	28	Sterile soil 1867	390	Percolator effluent	10	240	„
aver.								
2053	„	28	Extract of soil 1867	300	Percolator effluent	10	127,3	„

Results of analysis. Experiment 72.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams of nitrogen in 100 c. c. solut.				
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Unaccounted form	Total recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates			Ammonia	Nitrites	Nitrates
2051	10,60	89,40	80,50	0,00	8,90	42,4	357,6	322,0	0,0	35,6
2052	19,60	80,40	73,50	0,00	6,90	78,4	321,6	294,0	0,0	27,6
aver.	15,10	84,90	—	0,00	7,90	60,4	339,6	309,0	0,0	31,6
2053	1,80	101,80	86,50	0,00	15,30	0,8 1)	43,3	36,8	0,0	6,5

These cultures nitrified more vigorously in solutions than any cultures heretofore examined and more vigorously than any of the soils among the many that we have tested during the past two years. Not only this, but basing the nitrification upon the number of grams of nitrogen in the medium, it is seen that there was a larger percent of nitrification in the solution than in the soil culture, a condition which is also without parallel in our experiments with cultures inoculated with soils.

In numerous tests, this sewer culture has proved a vigorous nitrifier in ammoniacal solutions of various compositions; it also nitrifies well in soil.

Here then is, evidently, a nitrifying organism or group of nitrifying organisms, differing radically in physiological relations from those usually found in soils here, in that it can nitrify even better in solutions than in soils.

---

1) Excess.

Test with pure cultures.

Experiment 210. Tests of nitrification in the presence of different amounts of water were also made, using as the inoculum 1 c. c. each of cultures of pure nitrite and nitrate forming organisms [1]) isolated by the Stevens-Temple Silicate medium [2]).

The results are given in table 14.

Table 14. Showing failure of pure culture to nitrify in saturated soils.
Conditions of experiment No. 210.
Nitrogen 240 mgs. os $(NH_4)_2SO_4$.

Sample No.	Date of inoculation	Days from inoculation to analysis	Medium		Inoculum	
			Kind	Amount	Kind	Amount
2606	9/7/08	28	Sterile 1867 Water to $^1/_3$ saturation	400 60	Organism ite ate	1 c. c.
2607	„	28	Sterile 1867 Water to $^1/_3$ saturation	400 60	Organism ite ate	1 „
2610	„	28	Sterile 1867 Water to saturation	400 180	Organism ite ate	1 „
2611	„	28	Sterile 1867 Water to saturation	400 180	Organism ite ate	1 „

Results of analysis. Experiment No. 210.

No.	Percentage of initial nitrogen					Milligrams nitrogen in 100 c. c. solut.					
	Unaccounted form	Total recovered	Recovered as			Initial	Unaccounted form	Recovered	Recovered as		
			Ammonia	Nitrites	Nitrates				Ammonia	Nitrites	Nitrates
2606			45,51	0,15	12,53	400			182,0	0,6	50,1
2607			46,35	0,38	11,06	400			185,4	1,5	44,2
aver.	42,29	57,71	45,93	0,26	11,78	400	169,1	230,9	183,7	1,0	47,2
2610			44,11	0,07	0,00	133			58,7	tr.	0,0
2611			44,74	tr.	0,00	133			59,5	tr.	0,0
aver.	65,53	44,47	44,47	0,04	0,00	133	73,9	59,1	59,1	tr.	0,0

Here again there was large nitrification in soil cultures of $^1/_3$ saturation but no nitrification in the saturated soils.

This result is particularly significant in that it shows that the failure to find nitrates in solution and in very wet soils is in no way due to their reduction or destruction otherwise by organisms accidentally present.

Bases for comparison.

It is difficult to determine what is the most useful basis for comparing bacterial activity in soils with the activity of bacteria in solutions, whether to base the comparison on:

---

[1]) These cultures were pure in the sense that Winogradsky used the term, i. e., they would not render bouillon turbid and they formed nitrite or nitrate respectively from appropriate lower nitrogen compounds.

[2]) A convenient mode of preparing silicate jelly. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. p. 84.)

1) The percent of nitrogen originally present that is converted into some other form of nitrogen, or:

2) To compare the number of milligrams of nitrogen converted per cubic centimeter of solution with the number of milligrams of nitrogen per cubic centimeter of soil water so converted, or:

3) To compare the number of milligrams of nitrogen converted per cubic centimeter of solution with the number of milligrams of nitrogen converted per gram of moist soil.

To compare the percents of original nitrogen converted in two different media, one weak and the other strong, as in No. 2049 and 2055 of table 4, is manifestly an unfair measure of the nitrifying power of the cultures, since a very weak nitrifier might bring about a nitrification of nearly 100 % in the weak medium, while a very vigorous nitrifier might nitrify to less than 40 % in the more concentrated medium. In such instances, a comparison of the number of milligrams of nitrogen converted per gram of medium or per cubic centimeter of liquid present, is more significant, though this comparison would also be improper, if the nitrification reached such an amount in the weaker medium as to justify the belief that cessation of nitrification was caused by lack of suitable material to work upon.

The nitrifying organisms undoubtedly live and function in the moisture in the soil, so that from the view point of measuring the activity of the organisms, the second method mentioned above seems most useful. This method of comparison, however, probably tends to exaggerate the value of the changes occurring, and from a practical view point, a comparison by the third method is probably the most serviceable, since it pictures approximately the relative nitrifying power of two cultures of equal weight. Each comparison has its special uses and to enable the readers to make such comparisons as are desired, data are given to admit of the use of each of the comparisons suggested.

A comparison of nitrification in soils with nitrification in solutions is probably of very little significance except for the special purpose of this present article, unless some relation can be established showing that the vigor of nitrification in a certain solution can be taken as an index of the nitrifying vigor of the soil used to inoculate the solution.

General considerations.

The evidence of the tables presented, together with the results of numerous other experiments during our experience of the last two years, forces the conclusion that not all soils which can bring about vigorous nitrification of ammonium sulphate and cottonsed meal in soils in 4 weeks, can nitrify in solutions during that time. Numerous instances show that among the natural soils of this locality few or none can cause nitrification in solutions in 4 weeks, if at all. It is established also that some of these soils which cause nitrification not at all or slightly in Omelianski's, Ashby's, Wiley's, or other ammoniacal solutions, can still nitrify vigorously as soils. It is also brought out that the failure to nitrify is not due to the fact that a small inoculum is used in solution, since in the experiments given in detail there was no nitrification even when 400 grams of the live soil were used as an inoculum and repeated experiments have also shown that the presence of water to or above the point of saturation inhibits nitrification with the soils here used. Notwithstanding this fact, sewer-bed-soil nitrified as well in solutions as it did in soils.

From these facts, it seems that no trustworthy, reliable evidence as to the actual nitrifying power of a soil can be gained by inoculating the soil into solutions in the usual way, unless in the case of soils which are naturally very wet, offering practically the conditions obtaining in a solution. If negative results are had from solution tests, it may well be, as is the case of certain soils of this locality, that a type of nitrifying organisms or composite of organisms is present which is capable of nitrifying in soils but not in solutions; and that though the result is of negative indication, the soil may in reality be a vigorous nitrifier.

If positive results are had, it may be that the soil contains an organism similar to the sewer organisms experimented with, which nitrified more vigorously in solutions than in soils, and that while the indication given by the test is of vigorous nitrifying power, the soil may in reality be of low nitrifying power.

Tests by the method of liquid cultures are not of value even for purposes of comparing the nitrifying power of two soils, since two soils may nitrify to different degrees and yet both give negative results in solutions, or one bearing a vigorous soil-nitrifier may give a negative result and another bearing a vigorous solution-nitrifier, though weak as a soil-nitrifier, may give a strong positive result.

It seems then that to gain a useful indication of the nitrifying vigor of a soil, soil itself must be used as a medium. To picture conditions as they are in the field, the field conditions must be approximated as nearly as possible. With varying soil composition, temperature, light and water relation and a bacterial flora varying in species and vigor, the conditions are very complex and no laboratory tests can ever entirely represent them. It must, however, be the aim of the soil Bacteriologist to approach as nearly as possible the ideal. One imperative step is the testing of the activities of soil bacteria in soils rather than in solutions.

Summary.

1) Many soils which can nitrify ammonium sulphate and cottonseed meal mixed with them, fail to nitrify ammonium sulphate and cottonseed meal when used as the inoculum for solutions, such as those of Omelianski, Wiley and Ashby.

2) Nitrification is nil or very slight in saturated soils.

3) Nitrification in some soils proceeds as fast as ammonification converting the ammonia to nitrate as fast as it is rendered available by the ammonifying organisms.

4) Nitrification in extract of soil is in some instances very slight as compared with nitrification in the soil itself.

5) Nitrification in soils increases in intensity with the amount of inoculum used.

6) Some nitrifying soils do not nitrify when placed in solutions even though a very large inoculum is used.

7) Nitrifying organisms from sewer beds nitrified better in solutions than in soils.

8) Tests in solutions are not adequate to indicate the nitrifying vigor of a soil.

Nachdruck verboten.

Nitro-Bacterine, Nitragin oder Impferde?

Von Dr. **Hjalmar von Feilitzen,**
Direktor der Versuchsstation des Schwedischen Moorkulturvereins zu Jönköping.

Mit 2 Tafeln.

Wie bekannt, besitzt man in der sogenannten Impferde ein vorzügliches Mittel, normale Erträge von Leguminosen auch auf Böden zu erzielen, die arm an Knöllchenbakterien sind oder deren vollständig entbehren, und durch diese von Salfeld in die Praxis eingeführte Bodenimpfung ist die Kultur der Hochmoore und anderer Oedländereien erst rentabel geworden.

Es kommt jedoch zuweilen vor, daß man mit der Impferde auch Unkrautsamen und Pflanzenschädlinge „einimpfen“ kann, und außerdem hat man nicht überall eine passende Impferde zur Verfügung, zumal da es sich durch die Untersuchungen verschiedener Forscher ergeben hat, daß verschiedene Papilionaceen oder Gruppen derselben verschiedene Bakterienrassen oder Anpassungsformen benötigen, um eine richtige Wirkung hervorzurufen.

Deswegen hat man sich seit mehreren Jahren bemüht, Reinkulturen von diesen Knöllchenbakterien herzustellen, um auf diese Weise die Impfung zu erleichtern. Das erste Präparat war das von Nobbe und Hiltner hergestellte Nitragin, das Mitte der 90er Jahre in den Handel gebracht wurde. Dasselbe zeigte sich aber bei den Versuchen oft etwas unsicher, weshalb die Fabrikation, welche die Höchster Farbwerke übernommen hatten, bald aufhörte.

Hiltner hat aber die Untersuchungen über die Leguminosenbakterien fortgesetzt und neuere, mehr virulente Kulturen hergestellt, die eine bedeutend bessere Wirkung als das alte Nitragin ausüben sollen.

Diese neueren Kulturen wurden bis zum Jahre 1908 in Röhrchen auf festem Substrat (Gelatine) direkt von der Agrikulturbotanischen Anstalt in München erhalten, aber da die Nachfrage einen allzu großen Umfang annahm, wurde die Fabrikation einem besonderen Privatgeschäft, dem „Biologisch-chemischen Laboratorium Dr. A. Kühn in München“ (jetzt in Bonn) überlassen. Von dort wird das Bakterienpräparat in flüssigem Zustande in Flaschen, die zur Impfung von $^1/_4$ resp. 1 ha ausreichen, versandt.

Die Versuchsstation des Schwedischen Moorkulturvereins hat sowohl das ältere, als auch das neuere Nitragin wiederholt bei verschiedenen Leguminosen auf neukultiviertem Hochmoorboden mit ganz gutem Erfolg geprüft, aber bei den vergleichenden Versuchen wurde es immer von der Impferde übertroffen.

Es ist auch von anderen Seiten an der Herstellung von Leguminosenbakterienreinkulturen gearbeitet worden. So hat Moore in Washington eine sogenannte Nitro-Culture hergestellt, die in Amerika in großem Maßstabe geprüft wurde. Moore ließ die Bakterienkulturen auf Watte eintrocknen und glaubte, auf diese Weise eine Methode erfunden zu haben, wodurch die Bakterien besser haltbar und leichter versandbar wurden. Von verschiedenen Seiten ausgeführte Versuche haben aber ergeben, daß das Mooresche Präparat durch das Eintrocknen seine Wirkung fast völlig eingebüßt hatte¹).

---

1) Siehe besonders J. Simon, Die Widerstandsfähigkeit der Wurzelbakterien der Leguminosen und ihre Bedeutung für die Bodenimpfung. (Jahresber. d. Vereinig. f. angewandte Botanik. 1907.)

Prof. W. B. **Bottomley** an der Kings College in London hat kürzlich ein ähnliches Präparat, das unter dem Namen **Nitro-Bacterine** in den Handel gebracht ist, hergestellt. Nach den Reklameschriften sollen die Kulturen die Erträge nicht nur an Leguminosen, sondern auch an anderen Pflanzen, wie z. B. Tomaten, erhöhen.

Außerdem soll das Präparat eine sehr große Haltbarkeit besitzen und nach der Gebrauchsanweisung „3 Jahre lang aufbewahrt werden können".

Da das Nitro-Bacterine auch in Schweden verkauft wurde, haben wir dasselbe im Jahre 1908 auf unserem Versuchsfelde im Flahult zu blauen Lupinen neben Nitragin und Impferde auf unzersetztem Hochmoorboden geprüft.

Das Nitro-Bacterine wird in kleinen Paketen versandt, die zur Impfung von 2—4 ha (5—10 acres) ausreichen sollen und 6 Kronen Schwedischer Währung (= 6,72 M.) kosten. Das Paket besteht aus drei kleinen Paketchen. No. 1 enthielt einige Gramm Zucker, die als Nahrung für die Bakterien dienen sollen; No. 2, das eine innere Umhüllung von Stanniol hatte, enthielt etwas trockene Erde und Watte, worauf wohl die Bakterienaufschwemmung eingetrocknet war[1]), und Paket No. 3 war ein Salz (nach der Analyse phosphorsaures Ammoniak).

Nach der Gebrauchsanweisung wurde die Impfflüssigkeit folgendermaßen hergestellt:

In ein gut gereinigtes Holzgefäß wurden 4,5 Liter reines Quellwasser gegossen, der Inhalt des Paketchens No. 1 hineingetan und das Pulver durch Umrühren gelöst. Dann wurde vorsichtig Paket No. 2 geöffnet, Watte und Erde ins Wasser geschüttet und nochmals umgerührt. Das Gefäß wurde mit einem reinen Handtuch überdeckt in der Küche neben den Kochherd gestellt, wo die Temperatur sich fortwährend auf 24—27° C hielt. Nach 24 Stunden wurde der Inhalt des Pakets No. 3 hinzugetan und umgerührt. Das Gefäß stand noch 36 Stunden bei derselben Temperatur. Die Flüssigkeit hatte sich dann getrübt, was als ein sicheres Zeichen der Brauchbarkeit bezeichnet wurde.

Die Flüssigkeit wurde dann den Vorschriften gemäß über das auf der Tenne ausgebreitete Saatgut gespritzt, wonach die Samen einige Tage zum Trocknen liegen sollten. Während dessen waren die Lupinensamen vor dem Sonnenlicht vollständig geschützt.

Um ganz sicher zu sein, daß wir mit dem Nitro-Bacterine die genügende Menge Bakterien zugeführt hatten, wurde beinahe die ganze Flüssigkeitsmenge, die für 2—4 ha ausreichen sollte, für das kleine Quantum verwendet.

Die Nitraginimpfung geschah in der Weise, daß der flüssige Inhalt der Flasche unmittelbar vor der Verwendung mit $^1/_4$ Liter gekochter und abgekühlter Magermilch gut vermischt wurde. Das Saatgut wurde damit gut durchfeuchtet, sofort ausgestreut und eingeeggt. Auch in diesem Falle wurde der ganze Flascheninhalt, der für 1 ha bemessen war, zur Impfung des Saatgutes für die kleine Parzelle von 25 qm benutzt.

Das Nitro-Bacterine erhielten wir am 11. Mai; das Nitragin Ende Mai; das letztere war nach der Bemerkung auf der Flasche am 12. März hergestellt. Es wurde in einem dunklen kühlen Kellerraum aufbewahrt, bis es verwendet wurde.

---

1) Nach Simon soll die Virulenz der Knöllchenbakterien beibehalten werden, wenn zur Bakterienlösung ein Bodenextrakt zugesetzt und sie nachher auf Watte eingetrocknet wird, und darin mag sich wohl das Präparat von Bottomley von dem Mooreschen unterscheiden.

Am 27. Mai wurden auf dem noch unkultivierten Hochmoor bei Flahult in einer Entfernung von 200 m von den kultivierten Feldern 4 Parzellen von je 25 qm (5×5 m) und 10 m auseinander durch Hacken urbar gemacht. Um die Parzelle herum wurde ein 40 cm tiefer Graben ausgehoben, der Grabenauswurf auf die Beete geworfen und ebenfalls durch Hacken zerkleinert. Dann wurde auf 1 ha gerechnet 6000 kg gelöschter Kalk, 1200 kg Thomasmehl und 300 kg 38-proz. Kalidünger ausgestreut und eingehackt.

Sämtliche Arbeiten wurden mit der allergrößten Sorgfalt durchgeführt, um etwaige Infektion von außen zu vermeiden. Geräte, Hände, Stiefel und Hosen der Arbeiter, Säcke für Kalk, Dünger und Saatgut wurden mit einer 5-proz. Formalinlösung intensiv gewaschen.

Die Saat geschah an demselben Tage, und das Saatgut wurde sehr reichlich bemessen (400 kg auf 1 ha), da die Keimfähigkeit der blauen Lupine nicht ganz zufriedenstellend war (80 Proz.). Die Witterung war zur Erhaltung der Lebenskraft der Bakterien sehr günstig mit bewölktem Himmel und niedriger Temperatur.

Zuerst wurde die ungeimpfte Parzelle besäet und das Saatgut, um keimfrei zu sein, ebenfalls mit 5-proz. Formalinlösung befeuchtet. Die Samen wurden mit der Hacke eingeeggt.

Dann wurde Parzelle 2 mit den Nitro-Bacterine-geimpften Lupinen besäet, und auf Parzelle 3 kamen die Nitragin-geimpften Samen.

Auf der vierten Parzelle wurden 10 Liter (entsprechend 40 hl auf 1 ha) Impferde ausgestreut, d. h. Erde aus der Ackerkrume von etwas humosem Sandboden, der im Jahre 1907 Erbsen getragen hatte. Lupinen waren aber dort niemals angebaut.

Während der Vegetationszeit wurden folgende Beobachtungen gemacht: Die Lupinen gingen nach 12 Tagen gleichmäßig auf. In den ersten 14 Tagen sahen sie kräftig aus, aber dann hörte das Wachstum fast völlig auf und die Pflänzchen erhielten eine rötlich-gelbe Farbe auf sämtlichen Parzellen. Einzelne Pflanzen blieben grün und entwickelten sich weiter, aber die allermeisten hielten sich klein und kränklich während der ganzen Vegetationszeit auf den Parzellen 1, 2 und 3. Auf der Parzelle 4, wo Impferde ausgestreut war, trat anfangs Juli eine merkbare Besserung ein. Sämtliche Pflanzen fingen hier an zu ergrünen und zu wachsen. Die Entwickelung ging weiter und bei der Ernte in der ersten Hälfte im September war der Ertrag hier mehr wie fünfmal so hoch als auf den anderen Parzellen (Fig. 1—4).

Gegen diesen Versuch könnte man ja einwenden, daß keine Parallelparzellen angelegt waren, aber da der Hauptzweck war, die beiden Bakterienpräparate qualitativ zu prüfen und der vorher unkultivierte Hochmoorboden sehr gleichmäßig war, kann doch die Prüfung als genügend zuverlässig angesehen werden.

Die Lupinen wurden grün gewogen und das Erntegewicht betrug:

Ungeimpft	8,7	kg
Nitro-Bacterine	7,1	„
Nitragin	5,6	„
Impferde	43,7	„

Die beiden Bakterienpräparate haben also keine Ertragsteigerung hervorgebracht (die Depression liegt innerhalb der Versuchsfehlergrenze), und hier war auch die Knöllchenbildung äußerst spärlich vorhanden. Die Impferde hat dagegen eine sehr gute Wirkung gezeigt, und die Lupinen waren dort kräftig entwickelt mit zahlreichen großen Knöllchen an den Wurzeln.

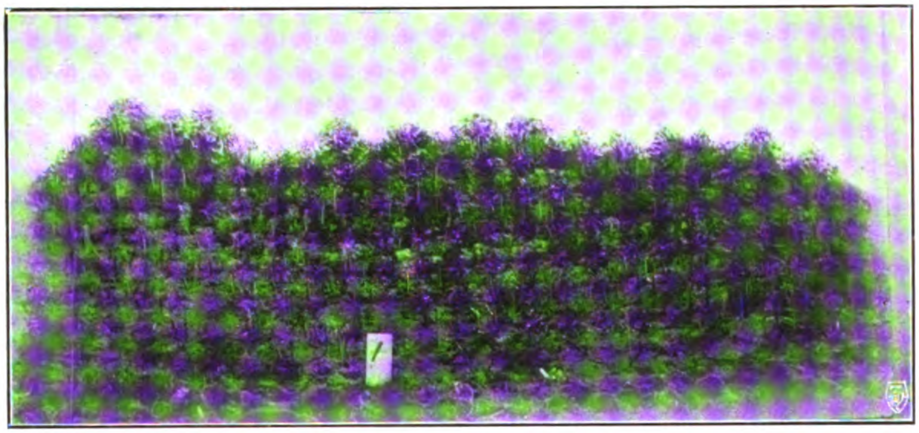


Fig. 1. Ungeimpft.

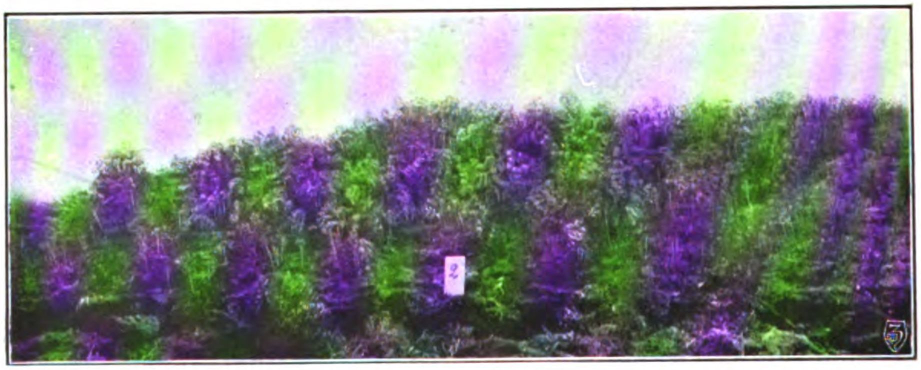


Fig. 2. Nitrobacterine.

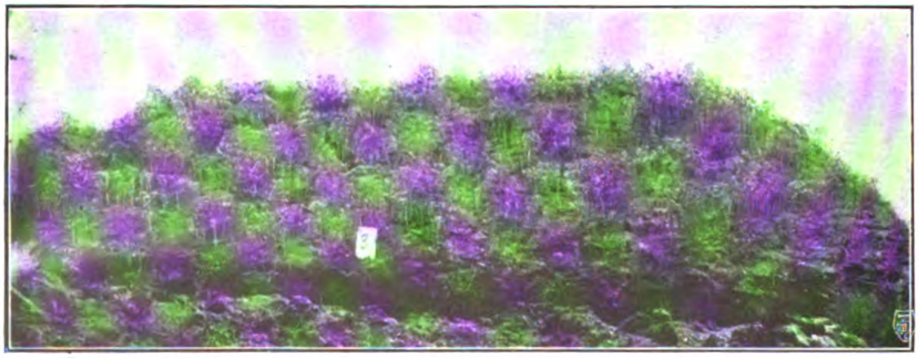


Fig. 3. Nitragin.

Verlag von Gustav

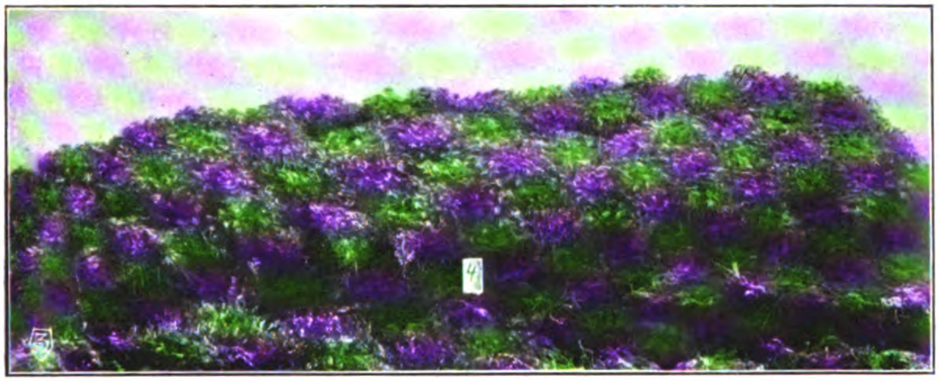


Fig. 4. Impferde.

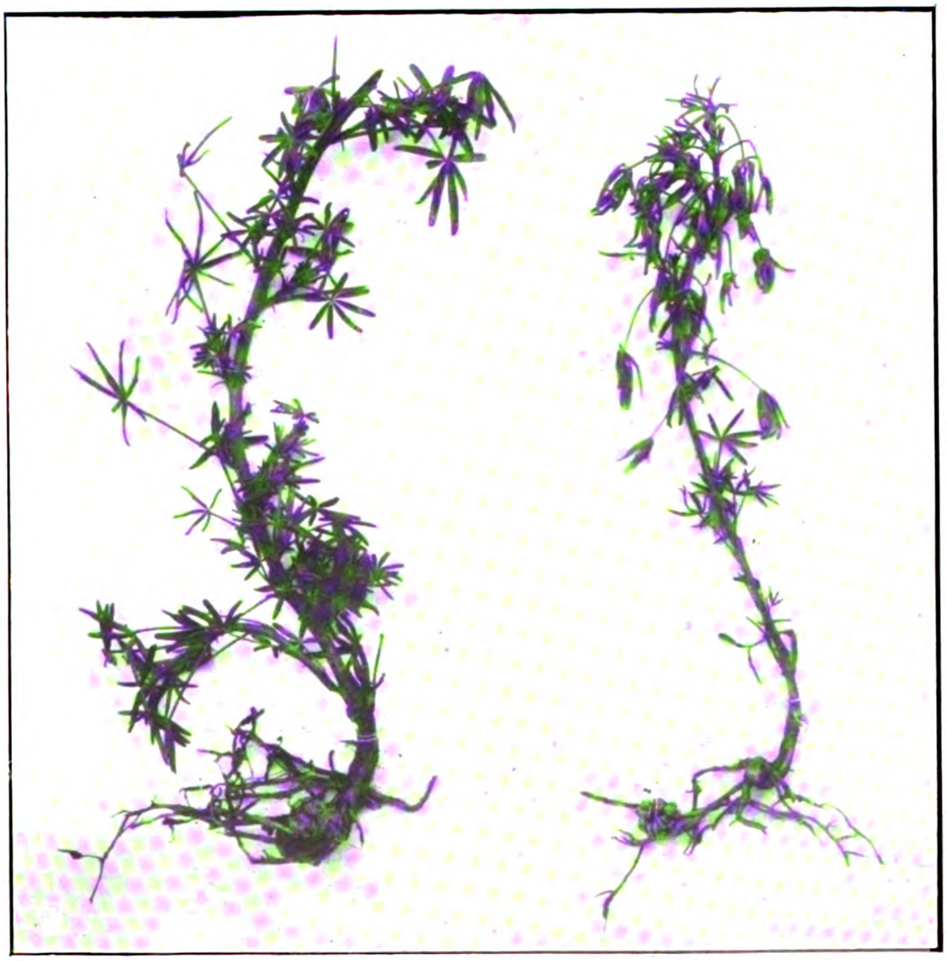


Fig. 5.

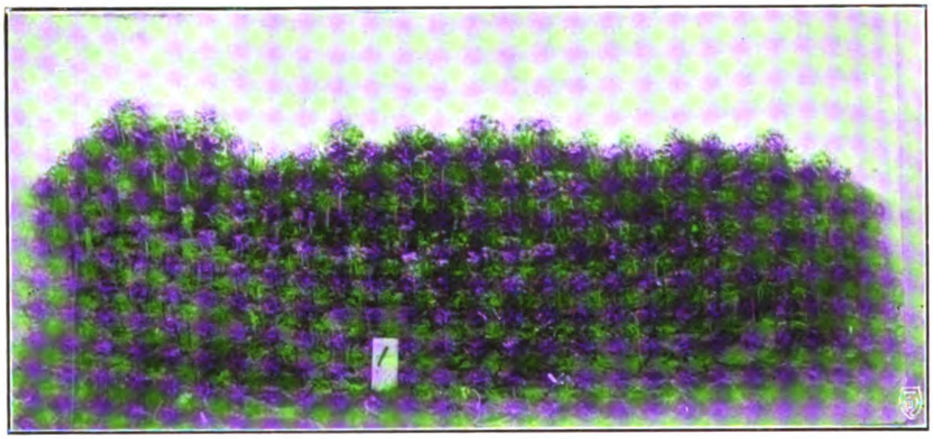


Fig. 1. Ungeimpft.

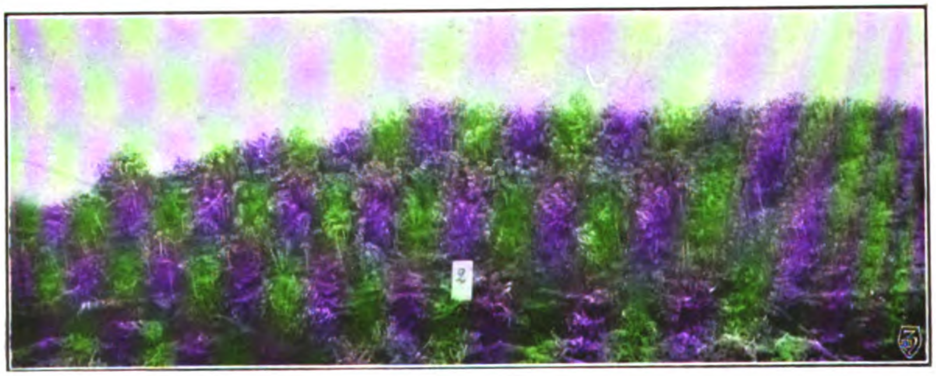


Fig. 2. Nitrobacterine.

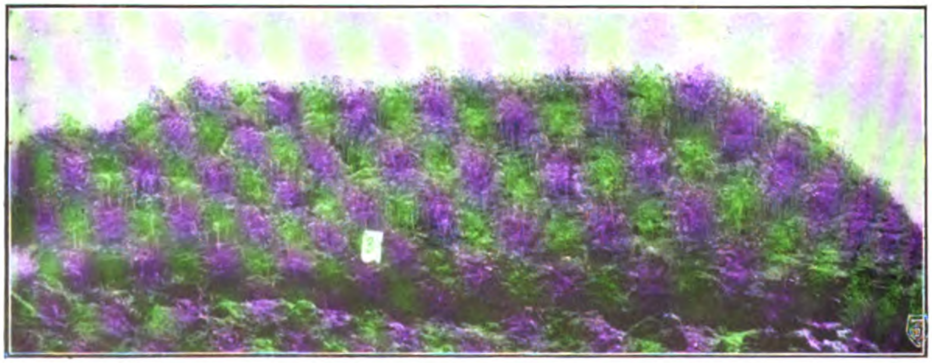


Fig. 3. Nitragin.

Verlag von Gustav

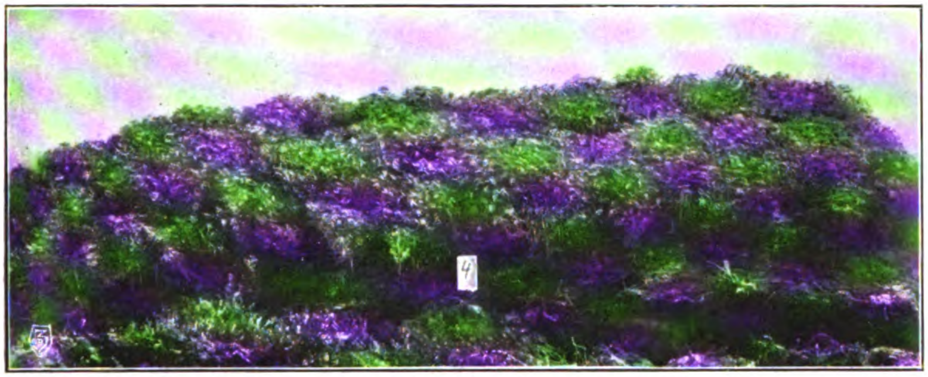


Fig. 4. Impferde.

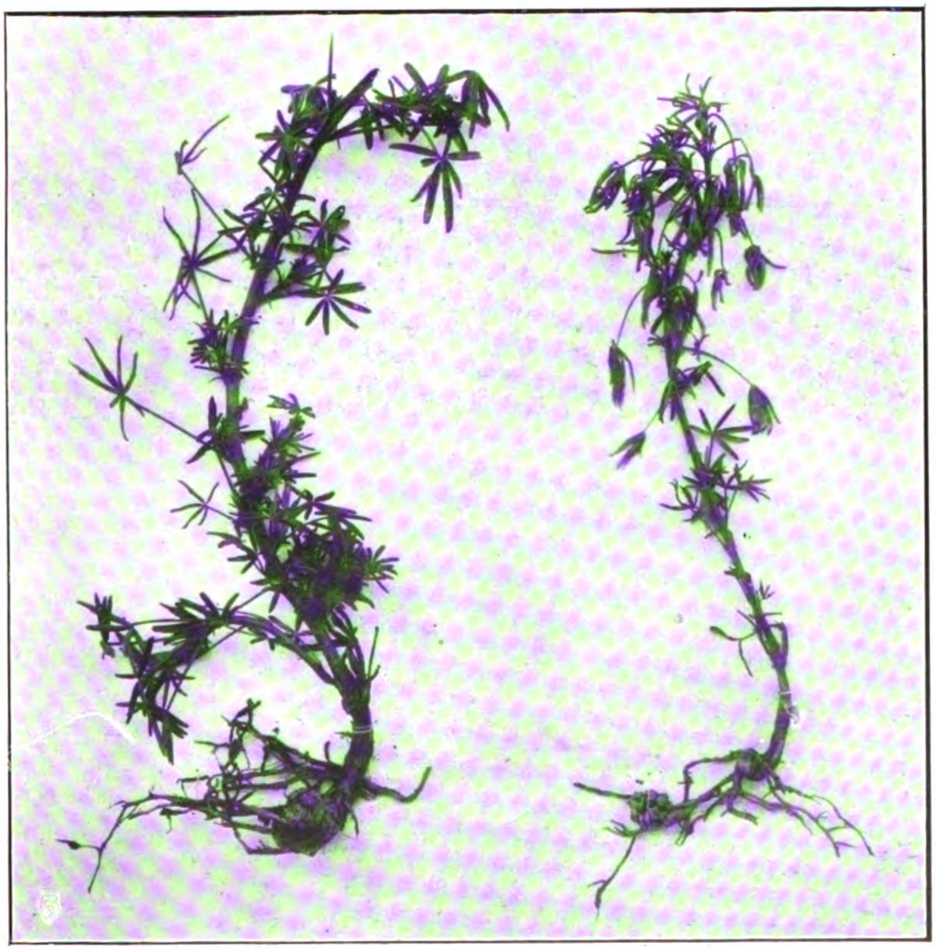


Fig. 5.

Fischer in Jena.

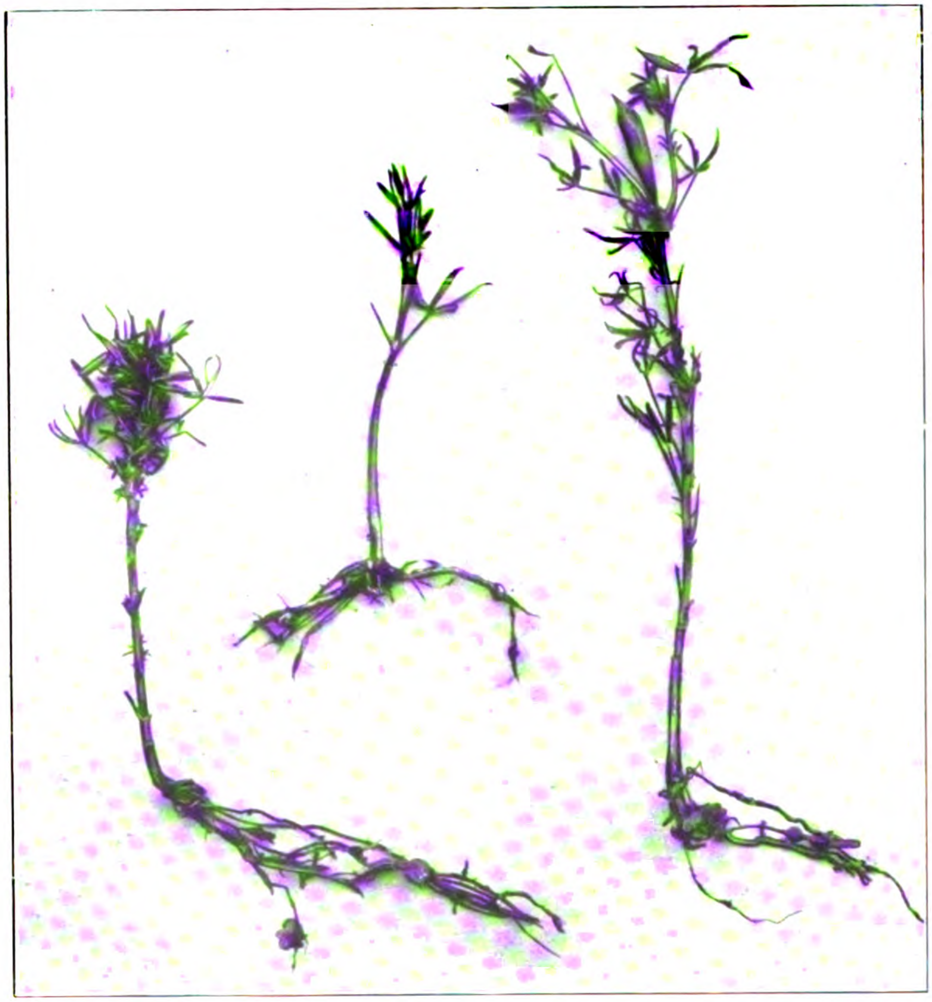


Fig. 6.

Verlag von Gustav

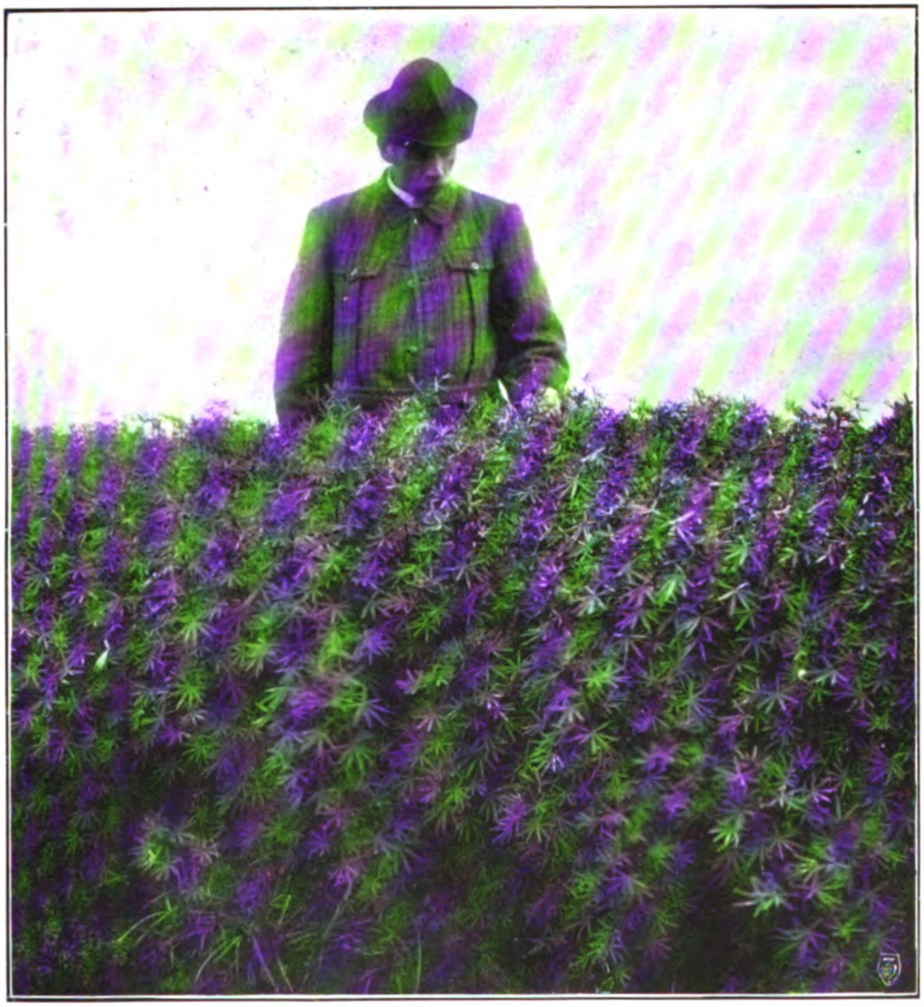


Fig. 7.

ischer in Jena.

Die Kulturschicht des neugehackten Hochmoorbodens war sehr flach (5 bis höchstens 10 cm), und dies zeigte sich auch an der eigentümlichen Entwickelung der Lupinenwurzel. Bei sämtlichen von uns untersuchten Wurzeln war entweder die Hauptwurzel abgestorben, sobald sie die untere humussaure Bodenschicht erreichte, und es hatten sich dann mehrere horizontale Nebenwurzeln gebildet, oder es hatte sich die Hauptwurzel gekrümmt, fast vollständig umgebogen und dann wagerecht nach der Seite gestreckt. Ob dieses Verhalten auf Nahrungsarmut in der tieferen Bodenschicht, auf Mangel an Bodenluft oder auf negativer Chemotaxis infolge der Humussäuren beruht, ist schwer zu sagen, aber das Aussehen war demjenigen der Wurzel der Krüppelföhren auf demselben Boden sehr ähnlich und so auffallend, daß wir es nicht ohne Bemerkung lassen konnten (Fig. 5 und 6).

Vollständig frei von Leguminosenbakterien hatte sich auch nicht die ungeimpfte Parzelle gehalten. Diese Infektion ist schwer zu erklären, da der Boden an und für sich doch wohl keine Bakterien enthalten sollte.

Die einzige annehmbare Erklärung wäre die, daß entweder bei nördlichem Sturm Erdpartikelchen mit anhaftenden Bakterien von den kultivierten Feldern dorthin getrieben sind, was doch infolge der Entfernung fast ausgeschlossen scheint, oder es kann durch Vögel oder andere Tiere, die durch das Grün der Versuchsparzellen mitten im wilden Urmoor angelockt worden sind, eine Bakterienüberführung stattgefunden haben.

Die Impferde zeigte wie bei allen älteren Versuchen eine sichere und gute Wirkung. Es mag auch hervorgehoben werden, daß die Impferde von Feldern genommen wurde, die niemals Lupinen getragen hatten, sondern nur Erbsen. Dasselbe haben wir in Flahult auch bei früheren Versuchen bemerkt, und im Jahre 1908 wurden auf verschiedenen Feldern in Flahult sowohl auf Sandboden als auf Hochmoorboden Lupinen angebaut auf Feldern, die vor 2 Jahren Futtererbsen getragen hatten.

Die Entwickelung war nicht destoweniger eine sehr kräftige. So z. B. wurde auf dem Hochmoorboden, auf 1 ha gerechnet, im Mittel von mehreren Parzellen 61000 kg grüne Lupinenmasse entsprechend 14333 kg lufttrocken geerntet. Fig. 7 zeigt das Aussehen der Lupinen nach einer am 17. September aufgenommenen Photographie.

Dies scheint mit der Ansicht der Forscher über die Rassenverschiedenheit der Leguminosenbakterien nicht zu stimmen; vielleicht haben die Bakterien in Flahult ein besonders hohes Anpassungsvermögen.

Von dem Nitro-Bacterine erhielten wir zu verschiedenen Zeiten 2 Pakete, und das eine, das erst Mitte Juni anlangte, wurde verschlossen bis zum Herbst (4 Monate) in der Station aufbewahrt.

Es wurde dann dem botanischen Laboratorium der Zentralversuchsstation in Stockholm überlassen mit der Bitte, dasselbe bakteriologisch zu untersuchen.

Der Assistent der Abteilung, Dr. Thorild Wulff, hat mit der größten Bereitwilligkeit einige Infektionsversuche an Lupinen in Sandkulturen ausgeführt und gleichzeitig hat der Bakteriologe der Zentralanstalt, Ingenieur Chr. Bartel, eine bakteriologische Untersuchung vorgenommen. Der letztere hat darüber einen Sammelbericht abgegeben, den ich mir hier worttreu wiederzugeben erlaube, indem ich den beiden Herren auch an dieser Stelle für ihre Untersuchung meinen ergebensten Dank ausspreche.

Der Bericht lautete:

„Vom Paket No. 1 des Präparates wurde ¼ abgewogen und in 1 Liter steriles Wasser gebracht. Nach erfolgter Lösung wurde unge-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

fähr $^1/_4$ des Pakets No. 2 in den Kolben aseptisch eingeführt, und in dem Termostaten bei 23° C (nach der Gebrauchsanweisung ungefähr 25° C) 24 Stunden stehen gelassen. Dann wurde der Inhalt des Pakets No. 3 zugesetzt. Nach Verlauf von noch 24 Stunden hatte sich der Kolbeninhalt getrübt. 24 Stunden später ist der Inhalt stark getrübt mit Schaum an der Oberfläche. Kein auffälliger Geruch.

Die mikroskopische Untersuchung des Kolbeninhalts zeigt hauptsächlich massenhaft Kokken- und Clostridium-Formen. Auch vereinzelt Stäbchen. Es wurden auf gewöhnlicher Gelatine und Lupinenextrakt-Gelatine Plattenkulturen gemacht. Auf dem ersten Substrat wurden hauptsächlich die genannten Kokken erhalten, welche sich als Micr. candicans (Flügge) erwiesen. Auf der Lupinenextrakt-Gelatine kamen außer Massen von candicans auch nicht peptonisierende Stäbchen sowie ein gelber, stark peptonisierender Kurzstab vor. Keine Kolonieen von Bac. radicicola.

Der Kolbeninhalt bot nach Verlauf von noch ein paar Tagen einen deutlichen Buttersäuregeruch: Starke Schaumbildung. Die vorher beobachteten Clostridium-Formen sind Buttersäurebakterien (obligat anaërobe).

Nachdem die Buttersäuregärung beendet war, wurde die Oberfläche mit einer Haut von Hefezellen überzogen. Erst nach ziemlich beträchtlicher Zeit wurde ein putrider Geruch bemerkbar.

Gefäßversuche. Mit Sand gefüllte Blumentöpfe wurden bei 125 bis 130° C $^1/_2$ Stunde sterilisiert.

Samen der blauen Lupine wurden sukzessive in Sublimat, sterilem Wasser und Alkohol gewaschen. In jeden Topf wurden 4 Samen gesäet, nachdem sie erst mit der 3 Tage alten Bakterienkultur befeuchtet waren. Die Lupinen wurden mit folgender steriler „Normallösung“ begossen:

Auf 7 Liter Wasser 4 g $Ca(NO_3)_2$, 1 g KNO_3, 1 g $MgSO_4$, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g KCl und 3—6 Tropfen Fe_2Cl_6 (5-proz.). Die Kalkmenge wurde auf $^1/_4$ herabgesetzt, da die Lupinen gegen Kalk empfindlich sind. Bei der Verwendung von stickstofffreier Lösung wurde der Kalk als Chlorid gegeben.

4 Serien von je 3 Töpfen.
A volle Nährlösung, mit Nitro-Bacterine
B N-freie „ „ „ „
C volle „ ohne „ „
D N-freie „ „ „ „

In jedem Topf waren 1—3 Pflanzen. Nach Verlauf von 1 Monat wurden die Wurzeln auf Knöllchenbildung untersucht, aber in keinem einzigen Falle waren Bakterienknöllchen zu entdecken. Die Impfung mit Nitro-Bacterine scheint also keine Einwirkung auf die Entwickelung der Lupinen gehabt zu haben“.

Dadurch erklärt sich also die Nichtwirkung der Nitro-Bacterineimpfung bei dem Versuche in Flahult. Das Präparat enthielt keine virulenten Knöllchenbakterien.

Daß das Nitragin ebenfalls keine Wirkung äußerte, muß wohl auch an dem Präparat liegen, da die Impferde eine so kräftige Entwickelung hervorbrachte.

Vorderhand empfehlen wir deshalb, immer beim Anbau von Leguminosen auf neukultivierten Hochmooren und Sandböden die seit altersher bewährte Impferde zu benutzen und die Bakterienpräparate nicht zu verwenden, bis sie sich in ihrer Wirkung als wenigstens ebenso sicher erwiesen haben.

Nachdruck verboten.

Ueber eine Methode, parasitäre Krankheiten bei Pflanzen zu bekämpfen[1]).

Von **M. C. Potter,** M. A.,
Professor der Botanik, Armstrong-College, Newcastle-upon-Tyne.

Mit 1 Figur.

Wenn auch die Erforschung der bakteriellen Einwirkungen in ihren Beziehungen zur Pathogenese der höheren Pflanzen noch in den Kinderschuhen steckt, so ist doch auch auf diesem Gebiete der Phytopathologie bereits einiges erreicht worden und verschiedene Arten bakterieller Erkrankungen sind endgültig erkannt.

Eine große Gruppe umfaßt diejenigen Krankheiten, bei denen die Bakterien in die Parenchymzellen eindringen und bei ihnen zu einer raschen Degeneration der Zellen und ihres Inhalts und zu einer völligen Zerstörung der Gewebe führen. Zu dieser Gruppe gehört die weiße Fäule der Rübe, die durch Pseudomonas destructans (Potter) hervorgerufen wird[2]). In einer früheren Arbeit über diese Krankheit habe ich zeigen können, daß dieses Bakterium seine Fähigkeit, lebendes Pflanzengewebe anzugreifen, der Tatsache verdankt, daß es ein Enzym (Cytase) absondern kann, welches auf Cellulose einwirkt, die Mittelschicht auflöst, und zu einer Schwellung und Zersetzung der Zellwände führt; zugleich bildet es ein Toxin, das auf das Protoplasma der Wirtszelle tödlich wirkt. Diese Eigenschaften setzen das Bakterium in die Lage, die Struktur der Pflanzen gänzlich zu zerstören. Sein Vordringen durch die erweichten Zellwände läßt sich verfolgen[3]); da sich seine Wirkung rasch von Zelle zu Zelle ausbreitet, wird das ganze Parenchymgewebe in kurzer Zeit in einen wässerigen Brei verwandelt.

Bei der Gruppe bakterieller Erkrankungen, welche in diese Kategorie gehören, bei welchen eine Absonderung von Cytase und Toxin für die Zerstörung der Zellen verantwortlich zu machen ist, muß man bei einem Versuche, den eindringenden Mikroorganismus zu bekämpfen, mit diesen beiden Faktoren rechnen.

Wenn man die vorliegende Frage einer Lösung entgegenzuführen unternimmt, so drängt sich einem von selbst als im gegenwärtigen Falle sehr naheliegend die schädigende Wirkung auf, welche die Anhäufung von Stoffwechselprodukten auf denjenigen Organismus zu haben pflegt, der sie gebildet hat. Es ist eine allgemein bekannte physiologische Tatsache, daß die Stoffwechselprodukte, wenn sie sich über ein gewisses Maß hinaus anhäufen, die Neigung besitzen, die Existenz des Organismus selbst zu schädigen; sie hemmen immer mehr sein Wachstum und seine Lebensfähigkeit und führen zu Zuständen, welche schließlich das Leben unmöglich machen. Die Hefen liefern hierfür ein gutes Beispiel; es ist bekannt, daß der durch ihren Stoffwechsel gebildete Alkohol, wenn er sich über einen gewissen Prozentsatz hinaus anhäufen kann, in dem Sinne wirkt, daß er eine Fortsetzung des Gärungsprozesses verhindert. Wenn man dieses Prinzip auf die Bekämpfung von Krankheiten an-

---

1) Vergl. auch: Journal of Agricultural Science. Vol. III. Part 1. December 1908.
2) Proceedings of the Royal Society. Vol. LXVII.
3) a. a. O. Vol. LXX.

wendete, so schien es eine Heilmethode zu bieten, die man im Laboratorium demonstrieren kann.

Pseudomonas destructans, ein sehr virulenter bakterieller Parasit, bei dem sich eine sehr rasche destruktive Wirkung auf die Rübe feststellen ließ, schien ein für solche Versuche sehr geeignetes Objekt zu sein.

In der von der Krankheit gegebenen Beschreibung wurde gezeigt, daß Pseudomonas destructans sowohl bei parasitärem Wachstum auf der Rübe, wie auf Nährlösungen eine Substanz bildet, die für lebende Pflanzenzellen toxisch ist und diese Eigenschaft auch nach dem Kochen beibehält; die Cytase hingegen ließ sich, wie festgestellt, dadurch völlig zerstören, daß man sie der Siedetemperatur aussetzte.

Es kann sein, daß das Toxin eines der Abfallprodukte des bakteriellen Stoffwechsels ist; indessen wurden diesbezügliche Untersuchungen nicht angestellt. Wie dem auch sei, es ist ein Körper, der sich von der Cytase trennen läßt, und es ist wahrscheinlich, daß eine für das Protoplasma höherer Pflanzen toxische Substanz unter gewissen Bedingungen auch für das Leben des Bakteriums gefährlich werden kann.

Es erschien nun nicht unlohnend, sich mit der Herstellung einer Lösung zu beschäftigen, aus der die Enzyme ausgeschaltet wären, die aber für die Bakterien toxisch wäre. Wenn man dieselbe dann dem angegriffenen Gewebe zusetzte, so könnte sie imstande sein, die Wirksamkeit der Bakterien zu vernichten und mit Erfolg ihren Verwüstungen Einhalt zu gebieten, um so die Wunde zur Heilung zu bringen.

Wenn man eine sterile Rübenbrühe, die nach der in meiner früheren Veröffentlichung angegebenen Vorschrift hergestellt ist, mit einer Reinkultur von P. destructans beimpft, so entwickelt sich ein rasches Wachstum, und man findet, daß sie nach kurzer Zeit bereits mit Cytase und Toxin neben anderen Stoffwechselprodukten gesättigt ist. Engt man eine solche Lösung durch Verdampfen im partiellen Vakuum ein, so enthält sie die entsprechenden Stoffe in stärkerer Konzentration; so wurde die Substanz, die bei den vorliegenden Untersuchungen verwendet wurde, hergestellt.

Im einzelnen war die angewendete Versuchsanordnung folgende: Ein Liter Rübenbrühe wurde mit einer Reinkultur von P. destructans beimpft und 3 Wochen lang bei 30° bebrütet; dieser Zeitraum wurde gewählt, um den Bakterien genügende Zeit zu lassen, die Nährlösung soweit wie möglich zu erschöpfen und um eine völlige Sättigung mit Stoffwechselprodukten abzuwarten. Am Ende dieses Zeitraumes wurden abgemessene Mengen dieser Lösung, und zwar je 100 ccm, bis auf 75 ccm, 50 ccm und 25 ccm eingeengt. Diese Konzentration wurde durch Destillation bei 60° C im luftverdünnten Raum mit einer Sprengelschen Luftpumpe hergestellt. Diese Lösungen in den drei Konzentrationen wurden in eine Reihe verschlossener, steriler Reagensröhrchen, von denen jedes etwa 5 ccm enthielt, abgefüllt, und diese an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde dem Dampfstrom ausgesetzt. Dadurch wurden einerseits alle Enzyme zerstört und andererseits die Zubereitungen vollkommen steril und frei von jeglichen verunreinigenden Mikroorganismen gemacht.

Je eines dieser Serien von Röhrchen wurde mit P. destructans beimpft und bei 20° C bebrütet. Nach einigen Tagen wurden von diesen Röhrchen Stichkulturen in Rübengelatine angelegt; dieselben zeigten in-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

dessen kein Wachstum, während zu gleicher Zeit von den Originalkulturen abgeimpfte Kontrollen starkes Wachstum aufwiesen.

In gleicher Weise war die Wirkung der zubereiteten Lösung auf lebende Bakterien unter dem Mikroskop überraschend. Bei der Untersuchung von einem Stückchen mit weißer Fäule infizierter Rübe sah man die Bakterien mit lebhaften Bewegungen nach allen Richtungen hin schwärmen; sobald aber die Lösung unter das Deckgläschen gebracht wurde und die Bakterien erreichte, wurden sie auf einmal alle gelähmt, und zeigten keine Spur von Beweglichkeit mehr.

Daraus ging klar hervor, daß die hergestellte Lösung (künftig als toxische Lösung bezeichnet) unzweifelhaft dem Bakterium gegenüber toxische Eigenschaften besaß.

Zuerst wurden mit der konzentriertesten Lösung Versuche angestellt, was für einen Einfluß dieselbe auf mit P. destructans infizierte Gewebe ausübte.

Eine vollkommen gesunde Rübe wurde in zwei Teile geteilt, jede der beiden Hälften mit einer Reinkultur von P. destructans beimpft und in derselben feuchten Kammer aufbewahrt, bis die Krankheit voll entwickelt war. Die eine Hälfte wurde sodann mit der toxischen Lösung behandelt, während man bei der anderen, als Kontrolle dienenden die Krankheit sich in normaler Weise ohne Behandlung entwickeln ließ; die Bedingungen blieben sonst vollkommen gleich.

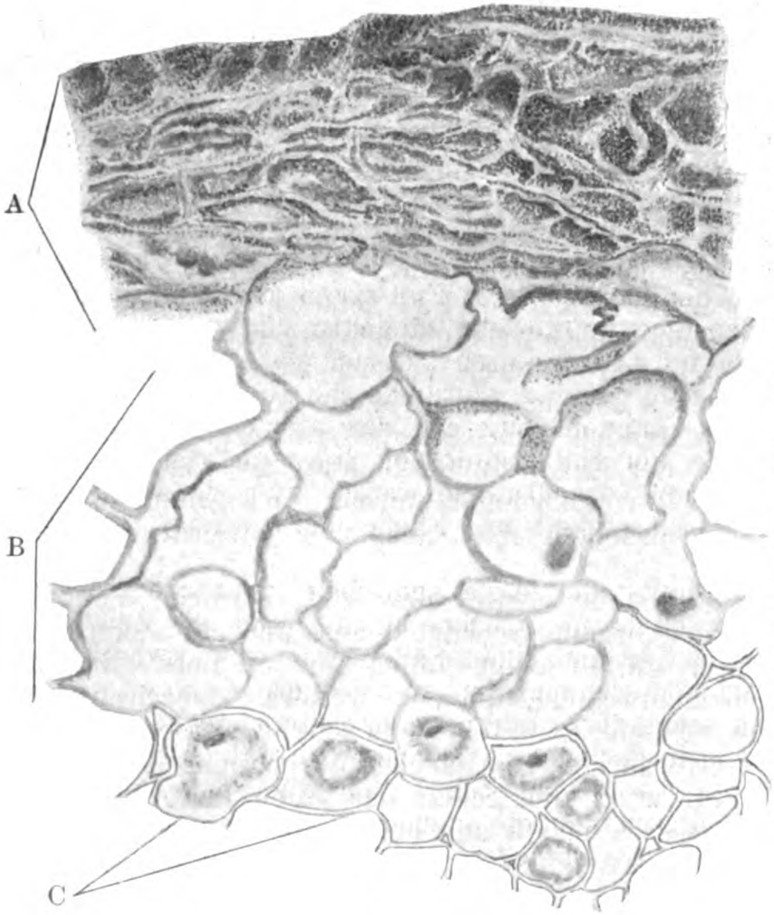
Im allgemeinen wurde die Impfung in der Weise vorgenommen, daß die Bakterien in eine kleine Grube gebracht wurden, die in die Mitte des Rübenstückes gemacht worden war. Nach etwa 24 Stunden ließ sich feststellen, daß der Parasit festen Fuß gefaßt hatte, und mehrere Zellschichten tief in das lebende Gewebe eingedrungen war. Die eine halbe Rübe wurde dann für den weiteren Versuch vorgenommen. Eine gewisse Menge der toxischen Lösung wurde in die Impfhöhle hineingetröpfelt und ungefähr 3 Stunden lang auf das affizierte Gewebe einwirken lassen; die Länge der Einwirkungszeit hing ab von der Tiefe, bis zu welcher die Bakterien vorgedrungen waren. Nach Ablauf der Zeit wurde die überschüssige Flüssigkeit mit Fließpapier entfernt, oder mit einer Pipette abgesogen.

Die so behandelte Impfstelle zeigte sehr bald deutliche Veränderungen: Die Zellen wurden braun, trockneten aus, und die Zerstörung machte keine Fortschritte. In einzelnen Fällen war es notwendig, die Lösung ein zweites Mal anzuwenden, um eine weitere Ausbreitung der Bakterienwucherung zu verhindern, und in ganz seltenen Fällen war eine dreimalige Behandlung erforderlich. Ein solcher dreimaliger Zusatz war indessen nur dann nötig, wenn die Zellen der Rübe im Anfang des Winters eine pechartige Beschaffenheit angenommen hatten und infolgedessen das Fortschreiten der Krankheit in einem ganz besonders raschen Tempo erfolgte.

Der Erfolg der Behandlung mit der toxischen Lösung war in die Augen springend; sie drang in die Zellen und Intercellularräume ein, machte den Bakterien das Leben unmöglich, die Zerstörungszone schritt nicht fort und das Weiterschreiten der Krankheit war vollständig aufgehalten. Demgegenüber war der Unterschied der unbehandelten Hälfte augenfällig: Die infizierte Stelle vergrößerte sich andauernd, die Infektion breitete sich immer mehr aus, bis das ganze Stück affiziert war, und die ganze Masse sich in einem Zustand völliger Fäulnis befand, so daß sie schließlich in einen wässerigen, markigen Brei verwandelt wurde.

Auch Versuche mit Kulturen, die man der Bakterienwirkung länger aussetzte, damit diese festen Fuß fassen könnten, waren ebenso von Erfolg begleitet. Selbst wenn man die Krankheit sich zwei oder mehr Tage ausbreiten ließ und die affizierte Stelle bis zu 2 oder 3 cm im Durchmesser groß wurde, ließen sich die Bakterien doch stets in ihrer weiteren Entwickelung auf die beschriebene Weise hemmen, während die Kontrollen der Infektion gänzlich zum Opfer fielen.

Die Versuche wurden an einer Anzahl Rüben wiederholt, und zwar stets mit dem gleichen Erfolge. Die beiden Rübenhälften wurden jedesmal in dieselbe feuchte Kammer gelegt, so daß die Verhältnisse bei beiden vollkommen gleiche waren. Es sei noch erwähnt, daß die Reinigung und das Abtupfen der Wunde, wie es bei der mit der toxischen Lösung behandelten Hälfte beschrieben wurde, ebenso bei der Kontrolle vorgenommen wurde, um jeden Verdacht einer besseren Behandlung zu vermeiden.



Mikroskopisches Präparat von einer Rübe; dasselbe zeigt die Wirkung der Beimpfung mit P. destructans und nachherigem Zusatz der toxischen Lösung.

A. Eine Schicht Detritus, der aus Bakterien und Trümmern von Zellwänden besteht; der innere Teil zeigt mit Bakterien gefüllte Zellen, deren Wände zusammengesunken, geschwollen und verkrümmt sind.

B. Zellen in einem früheren Stadium der Zerstörung; die Wände sind verkrümmt und erweicht und längs der mittleren Lamelle gespalten.

C. Zelle mit Plasmolyse; daran anstoßend gesundes Gewebes. Nach einer Mikrophotographie.

Gleiche Versuche wurden mit den schwächeren Lösungen angestellt, d. h. mit denjenigen, bei denen das Volumen durch Verdampfung nur bis zur Hälfte oder drei Vierteln eingeengt worden war; auch sie hatten vollen Erfolg. Die Bakterien waren unfähig, in diesen Lösungen zu wachsen, und wenn man letztere zu den erkrankten Geweben zusetzte, verhinderten sie ein weiteres Fortschreiten der Zellzerstörungen.

Es muß noch erwähnt werden, was man auch ohne weiteres erwarten mußte, daß die toxische Lösung auch auf die gesunden Zellen der Rübe eine sehr stark schädigende Wirkung ausübte; das Protoplasma der an das affizierte Gewebe stoßenden Zellen wurde rasch braun und starb ab. Jedoch erstreckte sich diese Wirkung nur über ein ganz enges Gebiet. Da die Bakterien getötet wurden, war eine Neubildung von Cytase unmöglich und die Wunde war in der Lage, zuzuheilen.

Bei mikrospischen Schnitten von solchen Stellen der Rübenstücke, die beimpft und mit der toxischen Lösung betupft worden waren, bot sich nach Härtung in Flemmingscher Lösung folgendes Bild: Auf den Schnitten sah man bei Heidenhainscher Färbung zu äußerst eine Schicht Detritus, die aus Bakterien und abgestorbenen Zellen mit Bruchstücken von Zellwänden bestand; danach kamen Zellen mit geschwollenen und gekrümmten Zellwandungen, bei denen eine Spaltung längs der mittleren Lamelle sichtbar war. Weiterhin lagen Zellen in den ersten Stadien der Zerstörung, einzelne mit deutlicher Plasmolyse; diese gingen unmerklich in die gesunden Regionen mit völlig intakten Zellen über.

Diese aus Rüben bereitete toxische Lösung ist nicht unbedingt für andere Mikroorganismen toxisch. Wenn man Penicillium glaucum, Bacillus subtilis und Proteus vulgaris darauf verimpfte, so gediehen sie sogar in den konzentriertesten Lösungen. Andererseits war diese Lösung, auch nachdem die genannten Mikroorganismen einige Zeit darin gewachsen waren, für P. destructans nicht zu gebrauchen. Es ließ sich ferner feststellen, daß die Lösungen, so stark giftig sie auch für Rübenzellen waren, auf Zellen anderer Pflanzen weit weniger toxisch wirkten. Wenn man z. B. Runkelrüben mit den Lösungen tränkte, ließ sich zwar eine Plasmolyse beobachten, besonders in den stärkeren Konzentrationen; legte man sie aber wieder in Wasser, so nahm das Protoplasma seinen normalen Platz an der Zellwand wieder ein. Nur wenn man die Durchtränkung einen ganzen Tag lang fortsetzte, zeigte das Verschwinden der roten Färbung an, daß die Runkelrübenzellen schließlich doch abgetötet worden waren.

Es wurden auch einige Versuche angestellt, ob sich die beschriebene Behandlungsmethode nicht auch in anderer Richtung anwenden ließe. Eine bei Orangen und Zitronen häufige Erkrankung wird von Penicillium italicum und P. olivaceum hervorgerufen; sie führen zu einer Zerstörung der Gewebe, die Wehmer[1]) beschrieben hat. Diese Pilze wachsen leicht auf einer Orangengelatine und man kann sie so in Reinkultur bekommen. Läßt man sie einige Zeit in sterilisiertem Orangensaft wachsen, so wird diese Flüssigkeit mit Stoffwechselprodukten gesättigt, die jedes weitere Wachstum der Pilze unmöglich machen. In entsprechender Weise kann eine solche Lösung in stärkerer Konzentration die Ausbreitung der Zerstörung bei von solchen Pilzen befallenen Orangen verhindern.

So wurden z. B. eine Anzahl Orangen beimpft, indem ein Stückchen Rinde entfernt und eine Kultur P. italicum hineingebracht wurde. Nach einigen Tagen zeigte das Auftreten der charakteristischen Färbung an, daß der Pilz festen Fuß gefaßt hatte. Das weitere Fortschreiten der Zerstörung wurde indessen sofort verhindert, sobald die Orange mit einer konzentrierten toxischen Lösung behandelt wurde. Die Kontrollorangen dagegen verfielen rasch der Zerstörung.

Bei den beschriebenen Versuchen wurde Hitze angewendet, um die

---

[1]) Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. II. 1895.

Enzyme zu zerstören; indessen läßt sich diese Methode nicht in allen Fällen anwenden, da viele Toxine dieser Art eine solche Behandlung nicht vertragen. Es ist bekannt, daß verschiedene Enzyme die Wirkung des Lichtes nicht aushalten; darin haben wir also ein Mittel, das wir zur Zerstörung der Enzyme benützen können, ohne gleichzeitig die spezifischen Eigenschaften der Toxine zu vernichten. Auch gewisse chemische Verbindungen sind, wie wir wissen, imstande, die Wirkung verschiedener Enzyme zu hemmen oder ganz aufzuheben; indessen muß man in jedem einzelnen Falle die besonderen Verhältnisse berücksichtigen und die Art der Enzyme und Toxine in Rechnung ziehen.

Die Anschauung, daß man die Stoffwechselprodukte nach Ausschaltung der Enzyme verwenden kann, um den Verwüstungen eines Parasiten Einhalt zu gebieten, hat durch das Ergebnis der angestellten Versuche eine wesentliche Stütze bekommen. Inwieweit das Verfahren etwa für therapeutische Anwendung in der Praxis in Betracht kommen kann, das zu entscheiden, liegt außerhalb des Rahmens dieser Arbeit. Da indessen diese Behandlungsweise bei zwei so verschiedenen Mikroorganismen, wie P. destructans und Penicillium italicum möglich ist, kann man vielleicht vermuten, daß sie sich zu allgemeiner Verwendung eignet, und daß noch viele andere Parasiten dadurch geschädigt, wenn nicht völlig in ihrer weiteren Entwickelung gehemmt werden, wenn man bei ihnen nach dem gleichen Prinzip verfährt. Wenn auch die großen Unterschiede zwischen dem Tier- und Pflanzenreich Vergleiche erschweren und man kaum sagen kann, ob diese Methode sich auch auf dem Gebiete der Tierpathologie wird anwenden lassen, so liegt es doch zum mindesten nahe, die Möglichkeit einer weitergehenden Verwertung für die medizinische Wissenschaft ins Auge zu fassen.

Zum Schluß möchte ich dem Government Grant Committee of the Royal Society noch meinen Dank aussprechen für die gütige Ueberlassung einer Zeissschen apochromatischen Immersionslinse 3 mm 1,40.

Inhalt.

von Feilitzen, Hjalmar, Nitro-Bacterine, Nitragin oder Impferde? p. 374.
Holzmüller, K., Die Gruppe des Bacillus mycoides Flügge, p. 304.
Potter, M. C., Ueber eine Methode, parasitäre Krankheiten bei Pflanzen zu bekämpfen, p. 379.
Pringsheim, Hans, Ueber die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs, p. 300.
Růžička, Vladislav, Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre, p. 289.
Stevens, F. L. and **Withers, W. A.,** Studies in soil bacteriology I., p. 355.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 7. Mai 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 14/20.

Nachdruck verboten.

Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann
in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung.
Mit besonderer Berücksichtigung des Stickstoffbindungsvermögens dieser Spezies.

Von Dr. **G. Bredemann,**
Assistent am Botanischen Institute der Universität Marburg.

Mit 6 Tafeln und 13 Figuren im Texte.

Inhaltsangabe.

Seite

Einleitung: Begründung der Spezies Bac. amylobacter A. M. et Bredemann . . 3

Kapitel I. 1. Fangen und Reinzüchtung der verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter 390. — 2. Vorkommen und Verbreitung desselben 393. — 3. Zur Untersuchung benutzte Reinkulturen 402. — a) 16 verschiedene selbst isolierte Stämme. — b) 11 verschiedene Originalstämme anderer Autoren, nämlich: Clostridium Pasteurianum Winogradsky, Clostrid. americanum Pringsheim, Clostrid. α und β Haselhoff et Bredemann, Bac. amylobacter I Gruber, Bac. saccharobutyricus v. Klecki, Granulobacter butylicum Beijerinck, Granulobacter pectinovorum Beijerinck et van Delden, ein Buttersäurebacillus aus altem und einer aus jungem Schabziegerkäse von v. Freudenreich und Jensen., ein Gasphlegmonebacillus-Stamm. — 4. Art der Weiterzüchtung der selbst isolierten Stämme und der Originalstämme anderer Autoren 405

Kapitel II. Methodisches 409

Kapitel III. Auf spezielle morphologische und physiologische Untersuchungen gegründeter Vergleich der neu isolierten Stämme untereinander und mit den Originalstämmen anderer Autoren. — 1. Spezielle Morphologie und Reservestoffe, Form und Größe der Sporen, Variationskurve derselben, Sporenkeimung, Beweglichkeit der Oidien, Form und Größe derselben, Sporangien, Freiwerden der Spore aus den Sporangien, die bleibende Sporangienmembran („Sporenkapsel"), Verhalten der Morphoden gegen Anilinfarbstoffe, der Zellkern, Reservestoffe, Mikrooidien 423. — 2. Minimum, Maximum und Optimum der Temperatur, Einfluß des Abkochens der Sporen 447. — 3. Maximum, Minimum und Optimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung 453. — 4. Entwickelung auf verschiedenen Nährböden, Ansprüche an Stickstoffverbindungen, Verwertbarkeit verschiedener Kohlenstoffquellen 460. — 5. Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperaturen und hohen Sauerstoffdruck 471

Kapitel IV. Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch Bac. amylobacter A. M. et Bred. — 1. Einleitung 478. — 2. Degeneration bezügl. des N-Bindungsvermögens 481. — 3. Regeneration des N-Bindungsvermögens 487. —4. Quantitative Stickstoffbindungsversuche mit Reinkulturen des Bac. amylobacter 493. — Zusammenfassung der aus den quantitativen Stickstoffbindungsversuchen zu schließenden Ergebnisse: Degeneration und Regeneration der Wirksamkeit; Einfluß der Kultivierung im offenen Kolben und im Stickstoffstrom; Einfluß der Darreichung von verschiedenen stickstoffhaltigen Verbindungen auf die Größe der Stickstoffbindung; Beziehungen zwischen stickstoffhaltigen Nährstoffen und den nach der Gärung übrig bleibenden Zuckermengen; absoluter und relativer Stickstoffgewinn bezogen auf Zucker; Beziehungen von verbrauchter Zuckermenge zur gebundenen Stickstoffmenge; Beziehungen zwischen Zuckerverbrauch, Säurebildung und Stickstoffbindung 514

Kapitel V. Chemische Untersuchungen über die von Bac. amylobacter gebildeten Gärungsprodukte (Alkohole und flüchtige Säuren) 526

Kapitel VI. Kritische Literaturübersicht über die anaëroben, glykogenspeichernden, bisher als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien 540

1. Kritische Betrachtung der spezies-diagnostischen Angaben über die hierhin gehörenden Vertreter 543. — 2. Spezielle kritische Besprechung der anaëroben, glykogenspeichernden, bisher als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien 551.

Literaturverzeichnis 559

Tafelerklärung 566

Die ersten Anfänge dieser Arbeit reichen auf das Jahr 1903 zurück. Es hatte damals in der Absicht des Herrn Professor Arthur Meyer gelegen, die anaëroben glykogenspeichernden, bisher als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien in ähnlicher monographischer Weise morphologisch und physiologisch bearbeiten zu lassen, wie das 1901 durch Gottheil in seiner „botanischen Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien“ geschehen war, welche Beschreibungen später durch Neide (1904), Blau (1905), Wund (1906), Garbowski (1907) und mich (1908) zum Teil an weiteren Species fortgesetzt, zum Teil ergänzt wurden. Infolgedessen beschäftigte sich schon Herr Dr. Gössel im Jahre 1903 im hiesigen botanischen Institute mit dem Herrn Prof. Meyer von Herrn Prof. Winogradsky freundlichst überlassenen „Clostridium Pasteurianum“.

Dr. Gössel hat sich im Anschluß an diese, im botanischen Institute gemachten Studien auch später im hiesigen landwirtschaftlichen Institute mit den anaëroben stickstoffbindenden Formen beschäftigt.

Später hatte ich dann während meiner Assistentenzeit am genannten Institute vom Januar bis November 1905 Gelegenheit, in Gemeinschaft mit Herrn Prof. Haselhoff die nach dieser Richtung hin unternommenen Untersuchungen fortzusetzen. Die Ergebnisse derselben sind in den „Landwirtschaftlichen Jahrbüchern“. Bd. XXXV. 1906 mitgeteilt worden [1].

Als ich im November 1905 die Assistentenstelle am botanischen Institute des Herrn Prof. Arthur Meyer übernahm, war es mir eine Freude, auf Wunsch meines verehrten Chefs die von ihm längst geplante, nach seinen Methoden durchgeführte systematische Bearbeitung der „Amylobacter-Arten“ in Angriff nehmen zu können.

Es sollte bei dieser Durcharbeitung zuerst entschieden werden, ob die bisher bekannt gewordenen, aus verschiedenem Materiale und aus verschiedenen Gegenden stammenden „Amylobacter-Arten“, deren Beschreibung auf eine sehr große Aehnlichkeit hinwies, in der Tat lauter verschiedene Species darstellten, oder ob vielleicht mehrere derselben zu einer Species zusammenzuziehen seien. Dazu war selbstverständlich eine vollkommene morphologische und physiologische Durcharbeitung aller dieser Stämme nötig, vorzüglich war auch die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs, durch welche Fähigkeit sich einige der zu den Untersuchungen herangezogenen Originalkulturen auszeichneten, ins Auge zu fassen, ebenso war die Buttersäure- und Alkoholproduktion genügend zu berücksichtigen.

Da man über die Variabilität der Bakterienspecies im allgemeinen noch wenig wußte und die Kultur des Bac. amylobacter anfangs einige Schwierigkeiten machte, schien es notwendig, zunächst die prinzipiellen Fragen der Speciesvariation etc. an einer leicht charakterisierbaren und leicht kultivierbaren Species vorzuuntersuchen. Ich habe daher an dem durch seine Sporenstruktur leicht auffindbaren Bac. asterosporus A. M., der ja auch schon eine gute Durcharbeitung erfahren hatte, diese Fragen studiert. Die Resultate dieser letzteren gleichsam Voruntersuchungen sind vor kurzem in einer gesonderten Arbeit erschienen [2].

Beide Arbeiten wurden unter Leitung des Herrn Prof. Arthur Meyer ausgeführt.

---

[1] Haselhoff, E. und Bredemann, G., Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien.

[2] Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XXII. 1908. p. 44.

Ehe ich auf eine ausführliche Darstellung meiner Untersuchungen eingehe, möchte ich hier eine kurze Zusammenstellung einiger der wichtigsten Ergebnisse der Arbeit geben. Eine vorläufige Mitteilung über einige derselben ist bereits in Heft 6 der Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. Bd. XXVI a. 1908 auf p. 362 erschienen.

Die nach allen Richtungen hin durchgeführten vergleichenden Untersuchungen der in Händen befindlichen 11 Originalstämme der Amylobacter-Arten (s. unten) und der 16 nach verschiedenen Methoden und aus verschiedenem Materiale selbst isolierten Stämme hat die völlige Identität aller unzweifelhaft ergeben.

Wir waren zu diesem Schluß berechtigt, nachdem die vergleichende Untersuchung der genügend lange Zeit „vorkultivierten" und während der Untersuchung stets gleichmäßig behandelten Stämme keinen einzigen durchgreifenden Unterschied weder in morphologischer noch physiologischer Hinsicht zutage gefördert hatte, der es angängig erscheinen ließ, einige unter ihnen als besondere Species zu betrachten. Wohl ließen sich bei den verschiedenen Stämmen in einzelnen Punkten kleine Verschiedenheiten auffinden, diese waren aber fast nie für einen Stamm spezifisch, entweder wurden sie auch bei anderen Stämmen in mehr oder minder ausgeprägter Weise beobachtet, oder sie waren für einen Stamm nicht konstant und bewegten sich stets innerhalb einer verhältnismäßig eng begrenzten Variationsbreite, so daß anscheinend die Abweichungen der aus dem verschiedensten Materiale und den verschiedensten Gegenden — Erde aus den Tropen, Afrika, Indien, Amerika, Samoa, wie vom Nordkap, Hammerfest, wie aus unseren Breiten — (s. Kap. I) isolierten Stämme anscheinend noch geringer sind, als wir solche von den Rassen mancher höherer Pflanzen kennen.

Dabei wurden beim Vergleich der einzelnen Stämme außer den Punkten, welche wir bei den „Amylobacter-Arten" in der Literatur meist als Speciesmerkmale angegeben finden, auch besonders alle die Punkte in Betracht gezogen, welche bisher in den Arbeiten, die aus dem botanischen Institute hervorgingen, berücksichtigt worden sind. Von allen in Betracht kommenden Punkten seien hier kurz genannt z. B. Form und Größe der Sporen, Vorhandensein oder Fehlen der „Sporenkapsel", Form und Größe der Oidien und Sporangien, Beweglichkeit, Färbbarkeit, Reservestoffe, Entwickelung bei verschiedener Temperatur, Kardinalpunkte der Temperaturen und der Sauerstoffspannungen für Sporenkeimung, Sporenbildung und Oidienwachstum, Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperaturen und gegen höhere Sauerstoffspannungen, Entwickelung auf verschiedenen Nährböden, festen und flüssigen, Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen, die Natur der Gärungsprodukte, Gas, flüchtige Säuren und Alkohole.

In allen diesen Punkten wurde eine weitgehendste Uebereinstimmung aller Stämme gefunden. Zum endgültigen Beweis der tatsächlichen Identität aller Stämme war aber noch ein sehr wesentlicher Punkt zu berücksichtigen, die für einige der zum Vergleich herangezogenen Originalstämme bekannte Fähigkeit der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs. Von einer wirklichen Identität konnte erst dann die Rede sein, wenn der Nachweis auch dieser Fähigkeit für alle Stämme erbracht wurde. In der Tat ist auch dieser Nachweis gelungen. Alle untersuchten Stämme des Bac. amylobacter, auch die, die unter verschiedenen Namen in der Literatur als selbständige Species angesehen wurden, besitzen die Fähigkeit der Stickstoffassimilation in genau derselben Weise, wie dies für einige Stämme bereits bekannt war. Diese Stickstoffbindungsfähigkeit ist eine sehr labile Eigenschaft, die mehr oder weniger leicht verloren geht. Durch ein von mir eingeschlagenes Kulturverfahren (Erdpassage) gelang es aber ohne Ausnahme, derartig geschwächte Individuen wieder zur normalen Wirksamkeit zu bringen. Durch dasselbe Verfahren wurden auch die alten Originalkulturen wieder aufgefrischt und bei ihnen eine Stickstoffbindungsfähigkeit nachgewiesen.

Nachdem sich auch in dieser wichtigen Frage der Stickstoffbindung eine absolute Uebereinstimmung aller Stämme herausgestellt hatte, die unter Berücksichtigung der ja stets vorhandenen Variation wohl als vollkommene Uebereinstimmung bezeichnet werden konnte, trugen wir kein Bedenken, alle Stämme zu einer einzigsten Species zusammenzufassen, die wir fernerhin mit dem Speciesnamen Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann bezeichnen werden.

Die Wahl dieses Speciesnamens und besonders auch die Belegung desselben mit unserem Autornamen geschah aus folgenden Gründen: Am liebsten hätten wir in Anlehnung an den von Winogradsky gewählten Namen Clostridium Pasteurianum die Species mit dem Namen Bacillus Pasteurianus Winogradsky benannt[1]), weil Winogradsky das größte Verdienst in der Erforschung dieses interessanten Organismus zukommt, und weil sich dieser Name als Bezeichnung der „Stickstoff assimilierenden Clostridien“ in der Literatur eingebürgert hat. Doch haben wir von diesem Namen deshalb Abstand genommen, weil eine Verwechselung mit dem Bacterium Pasteurianum Hansen ausgeschlossen werden muß. Die Unterscheidung der Gattungen Bacterium und Bacillus nach dem Fehlen und Vorhandensein der Begeißelung ist ja eine sehr zweifelhafte (s. Ellis 1902), und es würden beide Namen zusammenzufassen sein, wenn bei der Hansenschen Form eine Begeißelung nachgewiesen würde.

Der Ausdruck Clostridium mußte fallen gelassen werden, weil eine Aufstellung der Gattung Clostridium auf Grund der Anschwellung der Stäbchen nicht angeht.

Auch die von Beijerinck vorgeschlagene Aufstellung einer Gattung Granulobacter, welche umfassen sollte „die sporenbildenden, obligat oder temporär anaëroben Gärungsbakterien, welche bei vollständiger Anaërobiose sich teilweise oder ganz mit Granulose anfüllen und dann Clostridienform annehmen“, ist bis jetzt noch nicht zweckmäßig, weil wir bis jetzt nur 2 Bakterien kennen, Bac. amylobacter und Bac. asterosporus (= Granulabacter Polymyxa? s. Bredemann 1908), welche sich in diese Gattung einordnen ließen, und sich in dieser Beziehung zu viel Uebergänge zu anderen Species der Gattung Bacillus finden.

Deshalb haben wir beide Gattungsnamen: Clostridium sowohl als auch Granulobacter, fallen lassen und stellen unsere Species so lange zur Gattung Bacillus, bis sich zwingende Gründe für eine Spaltung dieser Gattung geltend machen.

Die Benennung unserer Species mit dem alten Namen Bac. amylobacter erschien am geeignetsten, wenn wir nicht einen neuen Namen in die Literatur einführen wollten, was ohne Frage nicht zweckmäßig sein würde, weil man dann schwierig ersehen würde, um welche Form es sich handele[2]).

---

[1]) Welchen wir zuerst gewählt hatten; Prof. Meyer bezeichnet diese Species in seiner kürzlichen Veröffentlichung „Der Zellkern der Bakterien“ (Flora 1908) mit diesem Namen.

[2]) Lehmann und Neumann (1907) wollen den Speciesnamen Bac. saccharo-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Wenn wir diesem Speciesnamen unseren eigenen Autornamen beilegen und nicht den van Tieghems, der die erste für damalige Zeit sorgfältige, aber jetzt vollständig unzureichende Beschreibung dieser Bakterie gegeben hat, so geschieht dies aus verschiedenen Gründen. Der Name Bac. amylobacter van Tieghem diente häufig als Sammelnamen für die ganze Gruppe ähnlicher Bakterien, die aber zum Teil sicherlich mit dem eigentlichen Bac. amylobacter gar nichts zu tun haben; er ist, wie Omeliansky (1902) schreibt, „nichts anderes, als eine jener Sammelspecies, welche in der Wissenschaft wegen Mangel präziser Unterscheidungs- und Trennungsmethoden temporär aufgestellt werden“.

Wir hätten trotzdem den Autornamen van Tieghem gerne beibehalten, aber da van Tieghem ohne Zweifel keine Reinkulturen in Händen hatte (s. Cellulosegärung etc.), so können wir keine Garantie dafür übernehmen, daß unsere Species mit der identisch ist, die van Tieghem in Händen hatte [2]).

In die Species Bac. amylobacter A. M. et Bredemann sind bis jetzt mit absoluter Sicherheit aufgelöst die früheren Species Clostridium Pasteurianum Winogradsky, Clostridium americanum Pringsheim, Clostridium α und Clostridium β Haselhoff et Bredemann, Bac. amylobacter I Gruber, Bac. saccharobutyricus v. Klecki, Granulobacter butylicum Beijerinck, Granulobacter pectinovorum Beijerinck et van Delden, ferner die Freudenreich- und Jensenschen beiden Buttersäurebacillen aus jungem und altem Schabzieger Käse, und endlich ist der Nachweis erbracht, daß einige als Gasphlegmonebacillen bezeichnete Stämme nichts anderes sind, als Vertreter des Bac. amylobacter A. M. et Bred.

Man kann auch wohl vermuten, daß, nachdem sich bei unseren Untersuchungen die absolute Identität aller 27 Stämme, die wir gerade in die Hände bekamen, herausgestellt hat, die meisten der in der Literatur beschriebenen ähnlichen Bakterien, die zum Teil als Erreger irgendwelcher spezifischen Leistungen angesehen werden, ebenfalls nichts anderes sind, als Angehörige dieses weit verbreiteten Bac. amylobacter, und daß die beobachteten Abweichungen von diesem, wenn nicht auf Kulturverschiedenheiten, so höchstens auf Rassenunterschiede zurückzuführen sind.

Die Literatur über die höchstwahrscheinlich zu unserer Species gehörenden, immer wieder neu entdeckten Bakterien ist eine ganz außerordentlich große. Ich habe dieselbe am Schlusse der Arbeit (Kap. VI) nach Möglichkeit zusammengestellt, wobei ich die Angaben über die meist immer als „neue Species“ beschriebenen Vertreter kritisch bespreche und mich dabei bemühe, die wahrscheinlichen Gründe für die von den

---

butyricus v. Klecki beibehalten wissen und rechnen hierzu den Grassberger und Schattenfrohschen „beweglichen Buttersäurebacillus“. „Nach Graßberger und Schattenfroh wäre diese Art mit dem Bac. amylobacter resp. Clostridium butyricum Gruber identisch. Gruber hat aber 2 Arten, die hierher gehören könnten, beschrieben und nicht angegeben, ob der Organismus beweglich ist, so daß wir dem ohnehin vieldeutigen Namen Bac. amylobacter keine Priorität zubilligen können.“ Die Beschreibung des Bac. saccharobutyricus v. Klecki ist jedoch so wenig bindend, daß es schwierig sein dürfte, nach derselben die Species wiederzuerkennen, dann hätte man schon eher den Winogradskyschen Namen benutzen müssen.

2) Nachträgliche Bemerkung. H. Pringsheim ist der Ansicht, daß ich „vor allem kein Recht hatte, das stickstoffbindende Clostridium mit dem Namen Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann“ nach mir „benennen zu wollen. Gebührt jemandem dieses Vorrecht, dann sicher nur Winogradsky“. Ich brauche wohl obiger, im Frühjahr 1908 niedergeschriebenen Begründung für die Wahl des Autornamens nichts weiter hinzuzufügen.

verschiedenen Autoren als besonders charakteristisch hingestellten abweichenden speziellen Merkmale zu erläutern.

Bevor ich zu einer Beschreibung meiner Versuche übergehe, sei es mir als Erfüllung einer angenehmen Pflicht gestattet, allen, die mich bei Anfertigung dieser Arbeit durch Ueberlassung von Untersuchungsmaterial, Originalkulturen, wie Erdproben, in liebenswürdigster Weise unterstützt haben, an dieser Stelle nochmals meinen verbindlichsten Dank auszudrücken, besonders den Damen Fräulein M. Decker in Nortorf, seinerzeit Nordamerika, und Fräulein L. Bredemann in Kiel, den Herren Prof. Benecke in Kiel, Prof. Beijerinck in Delft, Dr. Bienstock in Mühlhausen i. E., Prof. E. Buchner in Berlin, Hauptlehrer Damm in Apia, Samoa, Prof. van Ermengem in Gent, Gutsbesitzer Garnatz in Buchholz bei Pritzwalk, Missionar Gloyer in Kotapad, Indien, Prof. Grassberger in Wien, Gouvernements-Apotheker Dr. Grothe in Tsingtau, Kiautschou, Dr. C. C. J. van Hall in Paramaribo, Dr. Hattori in Tokio, Prof. Orla Jensen, damals in Liebenfeld bei Bern, jetzt Kopenhagen, Prof. v. Klecki in Krakau, Dr. med. G. Krosz in Husum, Prof. J. Meisenheimer in Berlin, Privatdozent Dr. Moro in Prag, Dr. Passini in Wien, Dr. H. Pringsheim in Berlin, Dr. A. Rodella in Wien, Apotheker Schulz in Hammerfest, Prof. Treub in Buitenzorg, Dr. Tscherbatscheff in Moskau, Dr. Winkler s. Z. in Viktoria, Kamerun, Prof. Winogradsky in St. Petersburg, Prof. Zimmermann in Amani, Deutsch-Ostafrika.

Nur der außerordentlichen Zuvorkommenheit genannter Damen und Herren, welche mich mit der freundlichsten Bereitwilligkeit unterstützten, verdanke ich es, daß ich meine Untersuchungen auf ein solch reichhaltiges Material ausdehnen konnte.

Kapitel I.

I. Fangen und Reinzüchtung der verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann.

Das Fangen der Bakterien geschah in verschiedener Weise. Entweder verfuhr ich so, daß ich eine kleine Menge der betreffenden Erde mit sterilem Wasser anschüttelte, 15 Minuten auf 80° erhitzte, und von dem Wasser einige Tropfen auf D-Agar brachte. Die Röhrchen kamen dann ins Vakuum und wurden dort bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter und bei Zimmertemperatur oder auch bei 28° gehalten. Nach annähernd 14 Tagen wurde untersucht. Es war interessant, das mikroskopische Bild zu beobachten. Die Erwartung, auf diese Weise eine ganze Anzahl der verschiedenartigsten Anaëroben zu bekommen, wurde nicht bestätigt. In sehr vielen Fällen bestanden die Kulturen aus etwas krankhaft aussehenden oft gewundenen Stäben verschiedener Dicke mit oder ohne Glykogen, und zum Teil auch aus Zerfallsprodukten verschiedenen Aussehens. Sporenbildende Formen wurden außer dem Bac. asterosporus und dem Bac. amylobacter auf diese Weise verhältnismäßig selten gefunden. Letztere Art trat bei dieser Isolierungsmethode übrigens nicht sehr häufig auf, vielleicht in 10 Proz. der Gesamtfälle waren die gesuchten „Clostridien“-Formen zu finden, oft dann in derartig überwiegender Menge, daß die betreffende Kultur mikroskopisch fast den Eindruck einer Reinkultur hätte hervorrufen können. In den meisten Fällen war es dem Röhrchen schon äußerlich anzusehen, ob die mikroskopische Prüfung die Anwesenheit

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

der „Amylobacter-Formen“ ergeben würde. Einmal war in solchen Röhrchen meist Gasbildung bemerkbar, ferner war der Belag meist typisch, hoch aufliegend, etwas schleimig-weich und fast immer am oberen Rande der (Roh-)Kultur rötlich gefärbt. Diese rötliche Farbe der Kulturen beobachtet man auch bisweilen in Reinkulturen auf D-Agar, auch bei Bac. asterosporus tritt sie bisweilen auf diesem Nährboden auf, jedoch in beiden Fällen nicht konstant. Waren nun also solche mit Jod sich tiefblau färbende „Clostridien“ entstanden, so wurden sofort D-Agarplatten ausgegossen, welche wiederum im Vakuum bei einem Gehalt von 1 mg Sauerstoff im Liter und bei der Temperatur von 28° gehalten wurden. Jetzt wurde eine eigentümliche Beobachtung gemacht. Selbst wenn von einer schon fast in Reinkultur vorliegenden kräftigen, meist aus Sporangien bestehenden Kultur ausgegangen wurde, erschienen auf der Platte nicht immer die gesuchten Formen, es entstanden oft sehr kleine, weiche, punktförmige Kolonieen, die mikroskopisch aus scheinbar lauter Kokken bestanden. Erst die späteren Untersuchungen zeigten, daß diese „Kokken“ nichts anderes sind als Abkömmlinge der Stäbe des Bac. amylobacter, welche aus bislang oft unbekannten Gründen einer sehr schnell verlaufenden Querteilung unterliegen und so zu „Mikrooidien“ werden, welche keine Sporen mehr ausbilden und sich in dieser abgeänderten Form fortpflanzen können. Auf diese Mikrooidien werde ich am Schlusse des Kap. III zu sprechen kommen. Es war auffällig, daß kein einziger Fall beobachtet wurde, daß neben diesen Mikrooidienkolonieen auch solche des normalen Zustandes auf einer Platte vorkamen. Wurden diese Mikrooidien auf D-Agar-Schrägröhren überimpft, so vermehrten sie sich auf diesen lebhaft.

Die Vermutung, daß das Fehlschlagen der Versuche daher rührte, daß nicht von reifen Sporen ausgegangen wurde, bewahrheitete sich nicht; ließ ich in den Rohkulturen die Sporen erst ausreifen und erhitzte sie vor dem Plattengießen 5 Minuten auf 80°, so war das Resultat im wesentlichen kein besseres, die Mikrooidienkolonieen traten trotzdem noch auf. Ich kann wohl sagen, daß es in höchstens 25 Proz. der Fälle gelang, aus den Rohkulturen den Bac. amylobacter auf die geschilderte Weise als unveränderte normale Reinkultur zu erhalten. Es war aber auch nicht möglich, bei häufigen, mit denselben Rohkulturen angestellten Bemühungen zu einem anderen Resultat zu kommen, während erneute, mit derselben Erde auf dieselbe Weise vorgenommene Isolierungsversuche dann oft den gewünschten Erfolg zeitigten.

Da ich zu Beginn der Versuche eine sehr große Menge von Rohkulturen angesetzt hatte, habe ich mir meist gar keine Mühe gegeben, solche Mikrooidienkolonieen liefernde Rohkulturen weiter zu beobachten, sondern habe dieselben, da ja Material genügend vorlag, einfach verworfen. Mit einiger Uebung lassen sich solche Kolonieen, die aus „Kokken“ bestehen, sehr leicht von den aus normalen Formen bestehenden unterscheiden, erstere sind klein, meist rund und diffus, letztere dagegen sind äußerst scharf begrenzt, im Innern des Agars fast stets linsenförmig, senkrecht gestellt; wächst der periphere Rand dieser Linse zur Oberfläche, so entsteht dort eine hoch aufliegende, etwas schleimige, scharf begrenzte Kolonie, die sich nur selten im weiteren Kreise ausbreitet, außerdem wird die Agarplatte leicht durch Gasbildung zerspalten, während die Mikrooidien keine Spaltung herbeiführen.

Ich möchte noch darauf aufmerksam machen, daß eine Verwechselung der jungen Kolonieen des Bac. amylobacter mit denen des Bac. asterosporus sehr leicht eintreten kann. Später breiten sich dann

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Asterosporus-Kolonieen meist in moosartigen Ausläufern über die Platte aus. Nach Entstehung der Sporen ist im übrigen eine mikroskopische Verwechselung ja ausgeschlossen.

Ein anderer Weg, den Bac. amylobacter zu isolieren, bestand in dem elektiven Anreicherungsverfahren Winogradskys. Ungefähr 6 cm hoch mit der Winogradskyschen stickstofffreien Nährlösung (mit Kreidezusatz) beschickte Röhrchen wurden mit ca. 2 g Erde geimpft, 10 Minuten auf 80° erwärmt, oder seltener auch nicht erhitzt, und bei 28° stehen gelassen. In spätestens 48 Stunden war in den allermeisten Fällen stürmische Gärung im Gange. Die Röhrchen wurden dann, etwas schräger gestellt, ungefähr 8 Tage lang sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit hat sich an der nach unten gerichteten Wand des schräg gestellten Röhrchens meist ein dichter Schleier abgesetzt, der durch die Gasblasen bisweilen zum Teil zerrissen ist und von dem dann flottierende Massen in der Flüssigkeit umherschwimmen. Dieser Schleier besteht aus einer dichten Bakterienmasse, die Kreide und Sandteile in sich einschließt. Die mikroskopische Betrachtung zeigt fast stets den Bac. amylobacter in großen Massen. Es wurden dann Teile dieses Schleiers in sterilem Wasser fein zerrieben und mit dieser Aufschwemmung entweder nach vorheriger Erhitzung auf 80° oder auch ohne Erhitzung D-Agarplatten gegossen, welche im Vakuum bei 1 mg Sauerstoff im Liter und 28° gehalten wurden. Auch hier kommt es vor, daß an Stelle der gewünschten Amylobacter-Kolonieen wieder die Mikrooidienkolonieen entstehen. Meine Bemühungen mit Nährböden anderer Zusammensetzung, wie Agar ohne Dextrose, mineralischem Agar mit Dextrose, Kartoffelagar, Heyden-Agar, Erdagar (s. Kap. III) sichere Resultate zu erzielen, haben fürs erste noch zu keinem Erfolg geführt[1].

Dann wurde noch eine andere Beobachtung gemacht. Obgleich die mikroskopische Prüfung die bei weitem überwiegende Anwesenheit des Bac. amylobacter ergeben hatte, erschienen seine Kulturen sehr häufig nicht auf der Platte, auch nicht bei dichter Aussaat. In vielen Fällen gelang es dann erst nach oft sehr häufig wiederholtem Plattengießen, ihn zum Wachstum zu bewegen. Ich muß allerdings gestehen, daß, wenn einige Versuche negativ ausgefallen waren, ich mich dann meist nicht weiter bemüht habe, gerade aus dieser Rohkultur Reinkulturen herzustellen, da es ja eigentlich nie darauf ankam, aus einer bestimmten Erde Reinkulturen zu erhalten, als vielmehr darauf, möglichst viele aus möglichst verschiedenen Gegenden zu bekommen. Ich hoffe später noch Gelegenheit zu haben, diese sich beim Isolieren bisweilen zeigenden Eigentümlichkeiten eingehender studieren zu können.

Etwas ähnliches beobachteten übrigens auch Grassberger und Schattenfroh (1902, p. 226), nämlich, daß „in vielen Fällen eine Isolierung des beweglichen Buttersäurebacillus aus flüssigem Material, das er in dem betreffenden Falle gärend beherrscht, durch das einfache Plattenverfahren ausgeschlossen ist“.

Die Reinkultivierung der „stickstoffbindenden Clostridien“ hat fast jedem Autor, der sich mit ihr beschäftigt hat, Schwierigkeiten gemacht (Winogradsky — Clostridium aus Podolien —, Keutner [1904],

---

[1] Später beobachtete ich, daß sich anscheinend D-Gelatine zur Reinkultivierung gut eignen würde (s. Kap. III). Wurde von der gärenden Rohkultur in N-freier Nährlösung in D-Gelatine übertragen, so entstanden in dieser vorzügliche, aus völlig normalen Morphoden bestehende Kolonieen, Mikrooidienzerfall trat anscheinend nur selten ein, doch habe ich über diesen Punkt noch keine speziellen Erfahrungen gesammelt.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Warmbold [1906, p. 107], Haselhoff und Bredemann [1906]). Letztere beiden Autoren hatten besondere Schwierigkeit, das in stickstofffreier Nährlösung fast immer mit dem Bac. amylobacter vergesellschaftete, in trommelschlägelförmigen Sporangien Sporen erzeugende Bakterium zu entfernen. Nach dieser Richtung hin habe ich nie Schwierigkeiten gehabt, und es wäre mir ein leichtes gewesen, außer den 16 reingezüchteten Stämmen noch eine beliebig größere Anzahl zu gewinnen. Reinkulturen zu erhalten gelang nach dem angewendeten Verfahren ohne jegliche Schwierigkeit, die einzigste Schwierigkeit bestand darin, sie in normalem Zustande zu bekommen.

Man ist wohl zu der Annahme berechtigt, daß die Mißerfolge und Schwierigkeiten, welche die meisten Autoren bei der Reinkultivierung gehabt haben, auf mangelhafte Kultivierungsmethoden zurückzuführen sind, denn in Wirklichkeit macht die Reinzüchtung des Bac. amylobacter, vorausgesetzt, daß gute Anaërobenapparate zur Verfügung stehen, durchaus nicht mehr Schwierigkeiten, als die irgend eines anderen Bakteriums. Weil dies vielfach angenommen wird, habe ich mich bei dem von mir geübten Reinkultivierungsverfahren hier etwas länger aufgehalten.

In einigen Fällen habe ich versucht, den Bac. amylobacter aus einem nach Beijerinck hergestellten „Butylansatz“ (1893) zu gewinnen. Auf diese Weise ist der Stamm 127 aus Reismehl gezüchtet. Bisweilen bediente ich mich auch des Beijerinckschen „Rezeptes zur Herstellung einer normalen Buttersäuregärung“ (Centralbl. f. Bakt., 1896), nach dem auch Grassberger und Schattenfroh zum Nachweis ihres beweglichen Buttersäurebacillus arbeiteten. Auf diese Weise ist Stamm 119 Hammerfest soliert worden. Dieses Rezept liefert, wenigstens nach meinen Erfahrungen, übrigens ziemlich unsichere Resultate. Der Stamm 129 wurde isoliert einfach dadurch, daß ich trockene Erbsen mit Wasser übergoß und stehen ließ, nach einigen Tagen war eine kräftige Gärung im Gange und mikroskopisch massenhaft der Bac. amylobacter nachweisbar. Sämtliche Stämme, die auf die eine oder andere Weise in Reinkultur gezüchtet wurden, haben sich als völlig identisch erwiesen.

Als empfehlenswerteste und bequemste Art der Isolierung dürfte entweder das Winogradskysche elektive Anreicherungsverfahren oder auch das direkte Impfen von D-Agar mit Erdanschüttelung sein.

Es ist auffällig, daß ich mit den geübten Methoden niemals einen anderen anaëroben Buttersäurebildner gefangen habe, als den Bac. amylobacter A. M. et Bred. Andere Autoren wollen häufig andere, den Bac. putrificus Bienstock usw., fast regelmäßig in Erde gefunden haben. Es ist möglich, daß ihre Anreicherungsverfahren von den unserigen erheblich abgewichen haben, aber wir müssen betonen, daß wir uns verschiedener Verfahren — N-freie und N-reiche Nährlösung, Mehlmaische, D-Agar, Faulenlassen — bedient haben und trotzdem immer denselben Bacillus fanden.

Um möglichst viele verschiedene Stämme aus den verschiedensten Ländern und Breiten und aus verschiedenem Materiale zu erhalten und um auch ein möglichst großes Untersuchungsmaterial über

II. das Vorkommen und die Verbreitung des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann

vorlegen zu können, habe ich mich bemüht, mir aus fast allen Weltteilen Untersuchungsmaterial zu besorgen. Ich lasse im folgenden das Verzeichnis der von mir auf die Anwesenheit des Bac. amylobacter hin untersuchten Erd-usw.-Proben folgen. Diejenigen Proben, aus denen der Bac. amylobacter reingezüchtet wurde, sind mit einer fettgedruckten Nummer bezeichnet. Ein —-Zeichen bedeutet, daß diese Species in der betreffenden Probe nicht gefunden wurde, ein +-Zeichen, daß sie gefunden wurde. Gleichzeitig sind des Interesses halber meine bezüglichen früheren Befunde (1908) über das Vorkommen des Bac. asterosporus A. M. in diesen Böden nochmals mit eingetragen, welche Species, wie ich nachgewiesen habe, als Stickstoffsammler eine ähnliche Rolle spielt, wie der Bac. amylobacter. Beim Bac. asterosporus sind nur diejenigen Proben, in denen diese Species gefunden wurden, mit einem +-Zeichen versehen, während die Proben, in denen er nicht beobachtet wurde, nicht bezeichnet wurden, denn es ist nicht unmöglich, daß der Bac. asterosporus, wie ich früher bemerkte (1908, p. 48), in viel mehr Fällen vorhanden gewesen und nur öfter übersehen worden ist, da es mir, zumal bei den Versuchen in stickstofffreier Lösung, speziell auf den Nachweis des Bac. amylobacter ankam.

(Siehe Tabelle p. 395—398.)

Die Untersuchungsproben hatte ich zum Teil selbst steril entnommen oder auch teils in sterilen, mit Watte verschlossenen, teils in nicht speziell sterilisierten, mit Kork verschlossenen Gläsern, oder in fester Verpackung, jede Probe für sich, so daß eine Verunreinigung der einen mit der anderen ausgeschlossen war, zugesandt erhalten. In letzterem Falle wurden sie sofort nach Ankunft in sterile Gläser übergeführt, natürlich alles mit der nötigen Vorsicht.

Ich möchte das an dieser Stelle überhaupt betonen, um etwaigen Zweifeln an der Richtigkeit des einen oder anderen Befundes entgegenzutreten, daß nur solche Resultate mitgeteilt werden, die ich durch eine Reihe nicht immer angeführter Kontrollen mehrfach auf ihre Richtigkeit geprüft habe. Hat sich irgend eine Frage als noch nicht sicher entschieden herausgestellt, so wird das auch in diesem Sinne mitgeteilt werden.

Die Untersuchung der verschiedenen Proben geschah meist durch das elektive Anreicherungsverfahren in Winogradskyscher Nährlösung oder auch durch direktes Uebertragen der pasteurisierten Erde auf D-Agar, selten wurde eins der anderen oben erwähnten Verfahren angewandt.

Ich habe schon vorher angeführt, daß sich beim elektiven Anreicherungsverfahren nach mehreren Tagen an der inneren Wand des Kulturröhrchens meist ein dichter aus Bakterien, Sand und Kreideteilchen bestehender Schleier ansetzte. Betrachtet man Teilchen derselben mikroskopisch, so ist man überrascht, fast immer genau dasselbe Bild zu bekommen, einerlei, ob die Erde vom Nordkap oder vom Aequator, ob sie aus hochkultiviertem Ackerland oder aus Urwald stammte. Fast stets waren 2 Formen vorhanden, einmal der Bac. amylobacter und dann der auch von anderen Forschern (Winogradsky, Keutner, Warmbold, Haselhoff und Bredemann) beobachtete dünne Bacillus, der in einer polaren Anschwellung eine längliche oder kugelrunde Spore trägt und etwas Glykogen speichert (Bacillus β Winogradskys), s. a. Fig. A, Taf. II „Begleitbacillus in stickstofffreier Nährlösung". Den dicken sporenbildenden Bacillus (Bacillus α Winogradskys), der in Rohkulturen ebenfalls verschiedentlich beobachtet wurde und den auch Keutner abbildet, fand ich in stickstofffreier Nährlösung mit

No.	Bac. amylobacter	Bac. asterosporus	Verzeichnis der untersuchten Erd-etc.-Proben
1	+	+	Erde von großer Straße in Buitenzorg, Java. 1. Aug. 05.
2	+		„ „ kleinem Fußweg in Pedang, Buitenzorg. 1. Aug. 05.
3	+		„ „ Privatgarten in Pedang, Buitenzorg. 20. Juli 05.
4	+		„ „ 's Lands Plantentuin, Rasenplatz. „
5	+		„ „ „ „ Palmenviertel. „
6	+		„ „ „ „ Baumfarnviertel. „
7	+		„ „ „ „ Orchideenviertel. „
8	+		„ „ „ „ Bambusenviertel. „
9	+		„ „ „ „ Calmusviertel. „
10	+		„ „ „ „ Canariumallee „
11	+		„ „ Cultuurtuin Tjikeumeuh, Pflanzung von Palaquium Gutta. 25. Juli 05.
12	+		„ „ do., „ „ Elais guinensis. „
13	+		„ „ do., „ „ Thea assamica. „
14	+		„ „ do., „ „ Erythroxylon coca. „
15	+		„ „ do., „ „ Theobroma cacao. „
16	+		„ „ do., „ „ Coffea liberica. „
17	+		„ „ Reispflanzung bei Buitenzorg, Oberfläche des Bodens vor dem Ackern.
18	+		„ „ do., unter der Oberfläche vor dem Ackern.
19	+		„ „ do., Oberfläche vor dem Ackern nach dem Säen.
20	+		„ „ do., unter der Oberfläche nach dem Ackern.
21	+		„ „ do., Oberfläche nach dem Herausnehmen der Keimlinge.
22	+		„ „ do., unter der Oberfläche nach dem Herausnehmen der Keimlinge.
23	+		Seesand von Pangkal-Balem, Insel Bangka.
24	+		Tjibodas, Gartenerde von der Oberfläche.
25	+		„ „ $^1/_2$ m tief entnommen.
26	+		„ „ 1 m tief entnommen.
27	+		„ Urwalderde von der Oberfläche.
28	+		„ „ $^1/_2$ m tief entnommen.
29	+		„ „ 1 m tief entnommen.
30	+		Goenoeng Pegat, Vorstenlanden. Eingeborenen Ländereien von Arachis hypogaea. Erde von der Oberfläche entnommen.
31	+		Wedi (Klaten), Tabakkultur von der Oberfläche entnommen.
32	+		„ „ „ $^1/_2$ m tief entnommen.
33	+		„ „ „ ca. $2^1/_2$ m tief entnommen.
34	+		Barambanan, Vorstenlanden, Zuckerrohrplantage, von der Oberfläche entnommen. 23. Juli 05.
35	—		Dijeng 6000'. Nahe dem Krater Tjondro dimoeka. Vulkanischer Boden. 24. Juli 05.
36	+		Feuchter Seesand von Java.
37	+		ebenso.
38	+		do. von Banka.
39	+		Probolinggo, Erde aus einer Baumschule in Quina.
40	+	+	Sonnendurchwärmter Seesand, dicht am Ufer von der Oberfläche entnommen, Wyk a. Föhr. Aug. 05.
41	+		Kiefernwalderde bei Pritzwalk, Brandenburg.
42	+	+	Gartenerde Nortorf in Holstein, ca. 50 cm tief.
43	+		Schlamm aus dem Teiche des botanischen Gartens in Marburg.
44	+		Feld bei dem Dorfe Taitung tschen bei Tsingtau, Kiautschou, bepflanzt mit süßen Kartoffeln Ipomoea batatas.
45	—		Trockener Torfsoden, Nortorf in Holstein.
46	+		Amani, Deutsch-Ostafrika, Land seit 3 Jahren unter Kultur, jetzt Akazien.
47	+		Fichtenwald Illinois U. S. A.
48	—		Fucus vesiculosus aus der Nordsee, Wyk a. Föhr. Aug. 05.
49	+		Urwalderde aus Amani. 900 m.
50	—		Fucus vesiculosus vom Strand bei Möltenort-Kiel.

No.	Bac. amylobacter	Bac. asterosporus	Verzeichnis der untersuchten Erd-etc.-Proben
51	+	+	Erde aus einem ausgetrockneten Teiche bei Kotapad, Vizagapatam-Distrikt Brit.-Ostindien.
52	+	+	Ackererde vom Gute Buchholz bei Pritzwalk (Mark). Der Acker hatte 1903 Hafer, 1904 Roggen und 1905, zur Zeit der Probeentnahme, Serradella getragen.
53	+		Rote Erde, die zum Färben der Häuser gebraucht wird, aus einer Grube bei Kotapad, Ostindien.
54	+		Wiesenboden bei Pritzwalk.
55	+	+	Wiesenboden aus Hüttenberge, durch Rauchgase stark mit Kupfer vergiftet 1).
56	+		Erde aus einer jungen Kakaopflanzung auf gerodetem Buschwald, der jedenfalls auf verwilderten Eingeborenenfarmen aufgekommen war, bei Soppo, Kamerungebirge, 600 m hoch. 20. Sept. 05.
57	+		Erde aus einer jungen Kakaopflanzung auf gerodetem Urwald bei Moliwe, Kamerungebirge, 300 m hoch. 21. Sept. 05.
58	+	+	Erde aus einem Bananenfeld bei Orotava, Teneriffa. 19. Okt. 05.
59	+		Erde aus einem Buchenwald unter einer Moosschicht, Marburg. 1. Juni 05.
60	+	+	Feld bei Taitung tschen. Bepflanzt mit der Hirseart Kauliang 2). Chinesenländereien.
61	+		Erde aus einem Fichtenwald beim Frauenberg bei Marburg. Von der Oberfläche entnommen.
62	+	+	Grasbewachsene Erde unter Kokospalmen, Apia, Samoa. 25. Juni 05.
63	+		Feuchter Seesand vom Strand bei Möltenort-Kiel. Aug. 05.
64	+		Schlickboden bei Flut von Wasser bedeckt, bei Ebbe trocken liegend. Husum, Schleswig-Holstein. Aug. 1905.
65	+		Sand aus dem Rhein bei Ludwigshafen.
66	+	+	Lehmboden vom Rittergut Aue bei Cassel.
67	+		Aus Kieferschonung am Bismarcksberg, Kiautschou, vorherrschend Pinus Thunbergii, dichter, gutentwickelter Bestand von etwa 2 m hohen Bäumen.
68	+		Urwalderde aus Amani, Deutsch-Ostafrika, 900 m.
69	+		Vom Ufer eines Baches bei Amani.
70	+		Aus einem Reisfeld bei Kotapad, Vizagapatam-Distrikt, Brit.-Ostindien.
71	+		Aus demselben Orte, vom Ufer eines stehenden Gewässers.
72	+	+	Erde aus dem botanischen Garten zu Marburg.
73	+	+	Erde von einem Acker des Gutes Buchholz bei Pritzwalk, auf dem 1900 Rotklee, 1904 Weide und 1905, zur Zeit der Entnahme der Erde, Roggen gebaut war. Juli 05.
74	—		Torfsoden aus Nortorf in Holstein.
75	+	+	Erde von einem Acker des Gutes Buchholz bei Pritzwalk, 1903 Anthyllis vulneraria, 1904 Weide, 1905 Anthyllis vulneraria. Juli 05.
76	+		Von Weideland in Illinois, U. S. A.
77	+	+	Von einem Maisfelde, Illinois.
78	+	+	Von einem Acker des Gutes Buchholz, 1903 Hafer, 1904 Rotklee, 1905 Weide. Juli 05.
79	+	+	ebenso, 1903 Hackfrucht, 1904 Hafer, 1905 Luzerne. Juli 05.
80	+		Marschboden aus dem Dockkoog bei Husum.
81	+		Gartenerde aus Nieblum a. Föhr.
82	+		Erde aus einem Mangohain (Mangifera indica), Ostindien.
83	+	+	Daucus carota aus Marburg.
84	+	+	Von einem Termitenhaufen, Ostindien.
85	+		Aus dem Jungle unter Shorea robusta bei Kotapad, Ostindien.
86	+	+	Aus einem Batatengarten (Sweet potatoes), Samoa.
87	+		Urwald II, Amani.

---

1) Der Boden enthielt: P^2O^5 0,115 Proz., Gesamt-N 0,15 Proz., K^2O 0,16 Proz., CaO 1,71 Proz., MgO 0,44 Proz., CuO 0,058 Proz., $PbSO^4$ 0,0036 Proz., Wasserlösl. Cu (als CuO) 0,0246 Proz. (s. Haselhoff 1908).

2) Kauliang ist anscheinend identisch mit Mohrhirse, Sorghum vulgare Pers. (Jahresber. d. Versuchsstation Bonn 1. Jan. bis 31. Dez. 1906. p. 16).

No.	Bac. amylobacter	Bac. asterosporus	Verzeichnis der untersuchten Erd-etc.-Proben
88	+	+	Staub von der Landstraße zum „Hansenhaus links“ bei Marburg.
89	+		Trockener Seesand, ca. 20 cm tief entnommen, Strand bei Nieblum a. Föhr. Aug. 05.
90	+	+	Erde aus Alassio bei Genua.
91	+		Feuchter Seesand vom Strande bei Stein an der Kieler Föhrde.
92	+		Von den Hängen des Signalberges Kiautschou. Dichter Bestand von 3—4 m hohen Bäumen von Robinia pseudacacia.
93	+		Grasbewachsene Erde unter Baumwoll(Kopak)- und Akazienbäumen. Schwemmland auf Korallenuntergrund, ca. 150 m vom Meeresstrande entfernt. Apia, Samoa.
94	+		Aus einem Eichenwalde, Illinois, U. S. A.
95	+		Erde aus der Augusta Victoria-Bucht (Reitbahn), zusammenhängender üppiger Graswuchs, 200—250 m vom Strande.
96	+		Erde aus dem Forstgelände am Iltisberge bei Tsingtau, 2-jähr. Erlenschonung, dichter, gut entwickelter Bestand.
97	+		Urwalderde I, Amani.
98	+		Erde aus Ostindien, welche von den Eingeborenen zur Reinigung der Kopfhaut benutzt wird.
99	+		Lehmboden der Domäne Wanfried bei Cassel.
100	+		Weizenkleie aus einer Handlung, Marburg.
101	—		Eichenblätter, trocken vom Baume gepflückt, 3 Jahre steril aufbewahrt.
102	—	+	Fichtennadeln, ebenso.
103	+		Von einem Haferfeld, Illinois.
104	+		Von Sandsteinfelsen, Illinois.
105	+		Sand- resp. Kiesberg bei Nortorf in Holstein, ca. 20 cm unter der Heide entnommen.
106	+		Bewässertes Land, bepflanzt mit Mais, aus Lonesome Dalley, Yavapoi Co, Arizona.
107	+		Land unter Buscheichen u. Cactus aus Eugenie Gulch, Yavapai Co, Arizona.
108	+		Land unter Nadelholz, Synx Creek, Yavapoi Co, Arizona.
109	+		Bewässertes Land, bepflanzt mit der Grasart „Alfalfa“ aus Big Bug Gulch Yavapoi Co.
110	—		Sehr feuchter, halb vermoorter Sphagnum-Rasen von stark saurer Reaktion, ca. 25—30 cm tief unter der Oberfläche entnommen, Bargstedter Moor bei Nortorf in Holstein. Sept. 05.
111	+		Ebenso, ca. $1^1/_2$ m tief, feuchtes Moor von stark saurer Reaktion.
112	+		Ein mehrere Jahre im Teiche des botanischen Gartens in Marburg gelegener Weidenstamm. Aus dem Inneren des stark nach Buttersäure riechenden, aber im übrigen ganz intakten Holzes entnommen.
113	+		Schlick aus der Fahrrinne unmittelbar südlich von Helgoland, 25 m Tiefe.
114	+		Aus dem inneren Kieler Hafen, nahe dem Ufer entnommen.
115	+		Zwischen Friedrichsort und Laboe (Kieler Hafen), mitten aus der Fahrrinne entnommen.
116	+	+	Schwarzerde aus Abda in Marokko.
117	—		Seesand, feucht, direkt der Meeresküste entnommen, Hammerfest, Norwegen. Juni 06.
118	+	+	Von einem unkultivierten Lande bei Hammerfest. Juni 06.
119	+	+	Von einem Acker aus demselben Orte.
120	+		Von einem Weideboden, ebenso.
121	+		Aus dem Walde „Jansvands-skoven“, ebendort.
122	+	+	Erde, auf der ein japanisches Wohnhaus gebaut ist, Tokio (Japan), ca. 20 cm tief. Juni 06.
123	+	+	Aus einem Walde von Cryptomeria japonica bei Tokio, ca. 20 cm tief. Juni 06.
124	+		Aus einem Reisfelde bei Tokio, ca. 20 cm tief. Juni 06.
125	+		Erde aus einem Teiche, in dem seit mehreren Jahren Nelumbium nucifera gepflanzt wird, ca. 20 cm tief, Tokio. Juni 06.
126	+	+	Erde aus dem botanischen Garten der Universität Tokio. Juni 06.
127	+		Reismehl aus einer Handlung in Marburg.

No.	Bac. amylobacter	Bac. asterosporus	Verzeichnis der untersuchten Erd-etc.-Proben
128	+	+	Erde, ca. 10 cm tief aus der Heide bei Zeven (bei Bremen). Sept. 06.
129	+		Trockene Erbsen aus einer Samenhandlung in Marburg.
130	+		Urwald bei Paramaribo, Surinam.
131	+	+	Gedüngter Sandboden (Pferdemist) aus dem botanischen Garten in Paramaribo, Surinam.
132	+		Sandiger Ton, ungefähr 10 Jahre unbebaut und mit sekundärem Busch bedeckt. Paramaribo, Surinam.
133	+		Ungedüngtes Kakaoland bei Paramaribo. „Es muß jedoch betont werden, daß von den Schattenbäumen (Erythrina) viel Laub gegeben wird, und daß der Boden durch die Knöllchen tragenden Wurzeln ganz durchsetzt ist.“
134	+		Gartenerde I aus Moskau.
135	+	+	Gartenerde II ebendorther.
136	+		Vom Ufer eines Baches bei Moskau.
137	+		Ackererde bei Moskau.
138	+	+	Aus einem Laubwalde bei Moskau.
139	+		Moorboden aus der Kolonie Friedrich-Wilhelm in Geestemünde (76,68 Proz. Wasser, 0,316 Proz. Ges.-N, 3,81 Proz. Mineralstoffe. — Humussäure: entsprechend 0,496 Proz. CO^2 in der Trockensubstanz). Nov. 08.
140	+		Moorboden ebendaher (87,65 Proz. Wasser, 0,107 Proz. Ges.-N, 0,431 Proz. Mineralstoffe. — Humussäure: entsprechend 0,877 Proz. CO^2 in der Trockensubstanz). Nov. 08.
141	+		Moorboden ebendaher (84,64 Proz. Wasser, 0,236 Proz. Ges.-N, 0,610 Proz. Mineralstoffe. — Humussäure: entsprechend 0,765 Proz. CO^2 in der Trockensubstanz). Nov. 08.
142	+		Moorboden ebendaher (84,97 Proz. Wasser, 0,236 Proz. Ges.-N, 0,650 Proz. Mineralbestandteile. — Humussäure: entsprechend 0,439 Proz. CO^2 in der Trockensubstanz). Nov. 08.
143	+		Sandboden aus Apenrade (Schleswig-Holstein), obere Schicht 1—25 cm (1,31 Wasser, 0,135 Proz. Ges.-N, 94,310 Proz. Mineralbestandt.). Nov. 08.
144	+		Stückchen einer Moosschicht von einem Hause in Marburg. Nov. 08.
145	—	+	Frischer Zweig von Taxus baccata aus einem Garten in Marburg. Nov. 08.
146	+		Trockene Buchenblätter aus einem Walde bei Marburg, aus einer hohen Laubschicht am Boden des Waldes entnommen. Nov. 08.
147	—		Wasser aus dem Metzhausbrunnen der städt. Gas- u. Wasserwerke Eschwege (Cassel).
148	—		Wasser aus der Spitalquelle, ebendaher.
149	—		„ bezeichnet Stedigrain, ebendaher.
150	—		„ „ Springröhre, ebendaher.
151	—		„ aus dem Werrafluß, ebendaher.
152	—		„ aus der städtischen Wasserleitung Marburg.

Dextrose als Kohlenstoffquelle sehr selten, häufiger trat er in solchen mit Mannit auf. Dagegen wurde der Azotobacter, sofern nicht pasteurisierte Erde verwendet wurde, sehr häufig gefunden. Der vorher genannte „Trommelschläger-Begleitbacillus“ ist, man kann wohl sagen, stets vorhanden, wenn Bac. amylobacter vorhanden ist. Die Bakterienmasse besteht aus einem Gewirr dieser beiden Formen, bisweilen in annähernd gleichen Mengen, bisweilen überwiegt die eine oder andere Form. Besonders in solchen stickstofffreien Kulturen, die mit Seesand angesetzt wurden, überwiegt dieser Begleitbacillus 1), er findet sich darin in dem „Schleier“ anscheinend fast in Reinkultur, man beobachtet dann nur im Kreide-Bodensatze der übrigens lebhaft gärenden Lösung nur vereinzelte

---

1) Die von Keutner (1904) ausgesprochene Meinung, derselbe sei dem Granulobacter pectinovorum Beijerinck und van Delden ähnlich, ist irrig, Granulobacter pectinovorum ist identisch mit unserem Bac. amylobacter.

Morphoden des Bac. amylobacter. Wir haben es bei diesem interessanten Begleitbacillus also ebenso wie bei dem Bac. amylobacter und dem Bac. asterosporus mit einem sehr verbreiteten Organismus zu tun, dessen Bedeutung noch näher zu untersuchen ist. Winogradsky, Warmbold und Haselhoff und Bredemann konnten an Reinkulturen desselben ein Stickstoffbindungsvermögen bislang nicht feststellen, aber wir kennen ja die leichte Veränderlichkeit dieser Eigenschaft.

Der Bac. amylobacter zeigt in diesen Rohkulturen bisweilen ganz abenteuerliche Formen (s. z. B. Fig. 1—6 auf Taf. II), wie sie auch Keutner in ähnlicher Weise beobachtete (Keutners „Clostridium giganteum“). Solche Formen sind im allgemeinen nicht sehr häufig, sie treten immer nur in einigen Kulturen auf, dann meist massenhaft, aber bei einem zweiten Versuch gelingt es nicht immer, sie wiederzubekommen.

Ebenso wie der Bac. asterosporus A. M. ist auch unser Bac. amylobacter ein Kosmopolit in des Wortes wahrster Bedeutung. Ich habe schon bei Gelegenheit der früheren Untersuchungen über die Verbreitung des Bac. asterosporus (1908) und in meiner vorläufigen Mitteilung über den Bac. amylobacter (1908) darauf aufmerksam gemacht, daß durch diese hier zum ersten Male scharf durchgeführte vergleichende Untersuchung so vieler unter verschiedenen Umständen erwachsener Stämme einer Species der exakte Beweis dafür erbracht wurde, daß die Variationsfähigkeit einer Bakterienspecies nicht größer zu sein braucht, als die einer höheren Pflanzenspecies, und habe ferner als besonders bemerkenswert hervorgehoben, daß die beiden Species durch den Einfluß der verschiedenartigen Standorte nicht wesentlich verändert worden sind, was in der Tat ein interessantes Resultat ist, wenn man bedenkt, daß die Stämme aus den verschiedensten Gegenden der Erde stammen.

Ferner ist wieder bewiesen, daß Bakterienspecies über die ganze Erde verbreitet sein können, so daß zu erwarten ist, daß die Bakterienflora der verschiedenen Gegenden doch nicht eine solch große Mannigfaltigkeit an Species aufzuweisen braucht, wie man vielleicht anzunehmen geneigt sein könnte[1]).

Betrachten wir kurz an der Hand obiger Zusammenstellung das Vorkommen des Bac. amylobacter in den verschiedenen Erdböden, so muß uns neben seiner ganz allgemeinen Verbreitung auch seine scheinbar große Anspruchslosigkeit auffallen. Der gleichfalls weit verbreitete Azotobacter-Organismus ist anspruchsvoller, er scheint gewisse Anforderungen an die Beschaffenheit des Bodens (Säure, Basizität) zu stellen (Beijerinck 1901, Hugo Fischer 1905, 1906, Christensen 1907). Der weit verbreitete Bac. asterosporus scheint eine wesentlich an den Kulturboden gebundene Pflanze zu sein (Bredemann 1908), die wir vielleicht als eine von den Menschen über die Erde verschleppte Form ansehen müssen; er fehlte z. B. meist in Seesand, Schlick und

---

1) Auf die anscheinend wenig große Reichhaltigkeit der Bakterienflora des Erdbodens machte auch Neide (1904) aufmerksam: p. 10 „Wenn trotz der großen Zahl der Waldbodenprüfungen — 53 verschiedene Proben — nur eine verhältnismäßig so geringe Zahl unterscheidbarer, sporenbildender, aërob und fakultativ anaërober Bakterienspecies von mir aufgefunden ist, so mag das zum Teil der Beschaffenheit der Kulturmedien zuzuschreiben sein. Anderenfalls muß man zu der Ueberzeugung gelangen, daß die Zahl der im Ackerboden (vergl. Gottheil 1901) und im Waldboden vorkommenden sporenbildenden aëroben und fakultativ anaëroben Bakterienarten nur eine beschränkte ist. Ein abschließendes Urteil darüber vermag jedoch nur eine fortgesetzte methodische Untersuchung zu geben.“

Walderde, fand sich dagegen fast regelmäßig auf gedüngtem Acker- oder Gartenland oder in dessen Nähe[1]).

Demgegenüber muß die ganz allgemeine Verbreitung und die anscheinend große Anspruchslosigkeit unseres Bac. amylobacter mit Recht auffallen.

Im ganzen wurden 152 verschiedene Proben untersucht, wobei unser Bac. amylobacter, mit Ausnahme von 15 Fällen, stets nachwiesen werden konnte, also in 137 Fällen, in 16 von diesen wurde er reingezüchtet. Ein Blick auf das Verzeichnis der untersuchten Proben zeigt die Reichhaltigkeit und Verschiedenheit des Materiales ja zur Genüge, und es ist ohne Frage sehr interessant, daß fast stets unsere Species vorhanden war, ein Zeichen von ihrer enormen Verbreitung. Es muß noch betont werden, daß der Bac. amylobacter im Boden stets gefunden wurde, ausgenommen in einer Erde, die in der Nähe des Kraters Tjondro dimoeka (Dijeng 6000′) entnommen war (Probe No. 35). Er kommt in Erde sowohl an der Oberfläche, wie in der Tiefe vor (No. 24—29, 31—33); an die Beschaffenheit des Boden scheint er gar keine besonderen Ansprüche zu stellen, denn er wurde gleichmäßig in hochkultiviertem Ackerlande, in Urwalderde und in reinem Sand, einmal sogar auch in einem durch Rauchgas stark mit Kupfer vergifteten Boden (No. 55) gefunden, auch in saurem Torfboden kommt er vor, jedoch anscheinend nicht regelmäßig (No. 74, 110), bei den Proben 139—142 ist auch die chemische Zusammensetzung der Moorböden angegeben, einer hatte einen 0,877 Proz. CO_2 entsprechenden Humussäuregehalt. Daß er auf unterirdischen Pflanzenteilen (Möhren, Kartoffeln) und auf Samen, Getreidekörnern etc. (Erbsen, Kleie etc.), welch letztere bei der Ernte ja auch stets mit Staub in Berührung kommen, immer vorhanden ist, ist leicht erklärlich. Während er so im Boden fast stets gefunden wurde, konnte er auf vom Baume gepflückten Blättern nicht nachgewiesen werden (101, 102, 145), daß er aber auch auf diesen häufig vorkommt, wohl mit dem Staub übertragen, haben die Untersuchungen von Haselhoff und mir (1906) gezeigt, es wird da wohl die bei oder vor der Probeentnahme herrschende Witterung — Regen, Trockenheit mit Staub — eine Rolle spielen. Im Wasser, soweit es sich wenigstens um Trinkwasser handelt, scheint er im allgemeinen nicht vorzukommen, wenigstens wurde er in den untersuchten 6 Trinkwasserproben (146—152) nicht nachgewiesen, allerdings zeigte sich in Winogradskyscher Lösung schwache Gärung, die sich nach Zusatz geringer Mengen steriler Erde noch verstärkte, doch war unser Bacillus mikroskopisch nicht zu entdecken, die Lösung enthielt nur kleine dünne, anscheinend krankhafte glykogenfreie Stäbe ohne Sporen; im Flußsande (65) und im Schlamm aus Teichen (112, 125) wurde er gefunden. Auch im Meerwasser scheint er nicht reichlich vertreten zu sein, wenigstens wurde er (48 und 50) auf zwei aus der Nord- und Ostsee stammenden Stücken von Fucus vesiculosus nicht gefunden; daß er aber auch im Meere vorkommt, ist durch die Untersuchungen der zahlreichen Schlick- und Seesandproben (23, 36—38, 40, 63—65, 89, 91, 113—115, 117), in denen er regelmäßig, mit einer

---

[1]) Neide (1904) beobachtete bei dem von ihm befolgten Isolierungsverfahren eine anscheinend spezifische Bakterienflora in sandigen, lehmigen und moorigen Böden, die aus dem südlichen Holstein herrührten. „In sandigem Boden waren besonders vertreten Bac. Ellenbachiensis und Bac. mycoides, im lehmigen daneben Bac. tumescens, **Bac. asterosporus**, Bac. pumilis, Bac. subtilis, Bac. cohaerens und Bac. robur; im moorigen Boden kam außer den angeführten sehr häufig, bisweilen ausschließlich, Bac. sphaericus vor.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ausnahme (117), gefunden wurde, bewiesen. Interessant ist auch die Probe 112, ein mehrere Jahre im Teiche des botanischen Gartens in Marburg gelegener Weidenstamm, dessen Holz stark nach Buttersäure roch, auch hier konnte unsere Species aus dem Innern des Holzes heraus isoliert werden.

Diese kleine Blütenlese möge genügen, um die außerordentlich weite Verbreitung unseres Bac. amylobacter zu illustrieren.

Mit Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung „stickstoffbindender, dem Clostridium Pasteurianum ähnlicher Formen" hat sich schon Winogradsky (1895, 1902) beschäftigt, dann beobachteten J. Behrens (1901), Benecke und Keutner (1903), Keutner (1904), Haselhoff und Bredemann (1906) und H. Pringsheim[1] (1908), daß solche Formen anscheinend sehr verbreitet sind; nach unseren jetzigen Kenntnissen darf man wohl annehmen, daß es sich bei den von den verschiedenen Autoren beobachteten Formen auch stets um unsere Species Bac. amylobacter gehandelt hat, trotzdem einige Autoren ausdrücklich ein Nichtübereinstimmen der von ihnen beobachteten Formen mit dem „Clostridium Pasteurianum" Winogradskys betonen (Clostridium aus Wolhynien Winogradskys, Clostridium giganteum Keutners).

Wenn ich bei meinen Untersuchungen über die Verbreitung des Bac. amylobacter auch nicht immer die in den Rohkulturen beobachteten Formen reingezüchtet habe, um ihre wirkliche Uebereinstimmung mit dem Bac. amylobacter festzustellen, sondern aus dem mikroskopischen Bilde — typische Sporangien, Glykogenspeicherung, typische Sporen mit anhängenden Resten der Sporangienmembran — und dem Buttersäuregeruch auf das Vorhandensein meiner Species geschlossen habe, so wird mir dies wohl niemand zum Vorwurf machen mit dem Einwande, daß es sich um verschiedene Species gehandelt haben könne, denn wenn ich aus einer solchen typischen Rohkultur den Bacillus in Reinkultur züchtete, wie ich es von den 137 Fällen bei 16 „Stichproben" getan habe, so hat sich derselbe stets als Bac. amylobacter erwiesen. In derselben Weise habe ich auch meine Untersuchung über die Verbreitung des Bac. asterosporus angestellt (1908), aus 30 Rohkulturen, deren makroskopischer und mikroskopischer Befund die Anwesenheit des Bac. asterosporus ergeben hatte, wurden in 22 Fällen Reinkulturen hergestellt, welche in allen Fällen Bac. asterosporus waren.

---

[1] Nachträgliche Bemerkung: Es ist gewiß originell, wenn H. Pringsheim die Priorität (!) „für die Beobachtung der weiten Verbreitung stickstoffbindender Clostridien" für sich beansprucht. In seinen auf meine vorläufige Mitteilung hin gegen mich gerichteten Angriffen schreibt er: „Die Angaben Bredemanns über die weite Verbreitung stickstoffbindender Clostridien auf der Erde sind gleichfalls nicht neu, sondern in meiner zweiten von ihm — allerdings ohne Seitenangabe — zitierten Arbeit sogar schon im Titel genannt."

Die Angaben H. Pringsheims über die „weite" Verbreitung „stickstoffbindender Clostridien" stützen sich auf die Untersuchung von ganzen 3 Proben; „die erste Kultur stammt von hiesigen Lupinen, die zweite von Datteln, die also subtropischen Ursprungs sein dürfte, die dritte aus einer Erde, welche den hohen Regionen der Dolomiten entstammt", dabei scheint Pringsheim den subtropischen Ursprung der auf Datteln gefundenen Form selbst anzuzweifeln, sie könnte meines Erachtens auch von den Fingern des Händlers stammen.

Daß die von mir hier mitgeteilten eingehenden Untersuchungen über die Verbreitung meiner Species Bac. amylobacter mit derartigen oberflächlichen Angaben nichts zu tun haben, ist ohne weiteres klar. (Vergl. auch meine vor kurzem in diesem Centralblatte erschienene Entgegnung: „Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien. Zur Abwehr gegen Hans Pringsheim".)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Es muß noch betont werden, daß, wenn die Dextrose in der Winogradskyschen Lösung durch andere C-Quellen ersetzt wurde, man zu genau dem gleichen Bilde gelangte (geprüft wurde Arabinose, Galaktose, Milchzucker, Melitose, Stärke, Inulin, Mannit). Die Gärung begann in allen diesen Lösungen ebenso schnell, wie bei den Dextroselösungen, auch bei Verwendung von Stärke, welche anscheinend sehr schnell invertiert wird, denn in spätestens 3 Tagen ergab Jod nie mehr Blau- oder Rotfärbung. Das mikroskopische Bild der verschiedenen Morphoden der „Clostridien“ in diesen Rohkulturen war stets genau das gleiche, wie in den Rohkulturen in Dextroselösungen, durchgehende typische Beeinflussung der äußeren Form durch die eine oder andere C-Quelle konnte ich bei meinen zahlreichen Versuchen nicht beobachten. Der Befund, daß der Bac. amylobacter in Rohkultur in stickstofffreier Nährlösung die genannten C-Quellen ohne weiteres angreift, ist ohne Frage interessant, denn wir werden sehen, daß er in Reinkultur die eine oder andere dieser C-Quellen oft unangegriffen läßt (s. Kap. III, Schluß). In allen diesen Nährlösungen entwickelt sich auch der Azotobacter ebenso kräftig wie in Dextroselösung.

III. Zur Untersuchung benutzte Reinkulturen.

I. Selbst isolierte Stämme.

1. Stamm 17a. Aus einer Erde, die der Oberfläche einer Reispflanzung bei Buitenzorg vor dem Ackern entnommen wurde.
2. „ 17b. Aus derselben Erde isoliert.
3. „ 54. Aus einer Wiesenerde bei Pritzwalk (Brandenburg).
4. „ 56. Aus einer Erde von einer jungen Kakaopflanzung bei Soppo im Kamerungebirge, 600 m.
5. „ 57. Aus einer Erde von einer jungen Kakaopflanzung bei Moliwe im Kamerungebirge, 300 m.
6. „ 68. Aus einer Urwalderde bei Amani, Deutsch-Ostafrika, 900 m.
7. „ 71. Aus einer Erde, die vom Ufer eines stehenden Gewässers bei Kotapad im Vizagapatam-Distrikt, Brit.-Ostindien, entnommen wurde.
8. „ 72. Aus Erde des botanischen Gartens in Marburg.
9. „ 76. Aus Weideland, Illinois U. S. A.
10. „ 78. Erde aus einem Acker des Gutes Buchholz bei Pritzwalk (Brandenburg), derselbe hatte 1903 Hafer und 1904 Rotklee getragen und diente 1905, zur Zeit der Entnahme der Probe, als Weideland.
11. „ 80. Aus Marschboden aus dem Dockkoog bei Husum.
12. „ 83. Von Möhren (Daucus carota) aus Marburg.
13. „ 84. Aus einem Termitenhaufen bei Kotapad, Ostindien.
14. „ 92. Aus Erde von den Abhängen des Signalberges bei Tsingtau, Kiautschou.
15. „ 119. Aus Ackererde von Hammerfest, Norwegen.
16. „ 127. Aus Reismehlmaische, Marburg.

II. Originalkulturen anderer Autoren.

17. Stamm A. Clostridium Pasteurianum Winogradsky (1895).
18. „ B. Clostridium americanum Pringsheim (1906—1908).
19. „ C. Clostridium α Haselhoff et Bredemann (1906).
20. „ D. Clostridium β Haselhoff et Bredemann (1906).
21. „ E. Bacillus amylobacter I Gruber (1887).
22. „ F. Bacillus saccharobutyricus v. Klecki (1896).
23. „ G. Bacillus der Gasphlegmone.
24. „ H. Granulobacter butylicum Beijerinck (1896).
25. „ I. Granulobacter pectinovorum Beijerinck et van Delden (1906).
26. „ K. Buttersäurebacillus aus altem Schabzieger v. Freudenreich und Jensen (1906).
27. „ L. Buttersäurebacillus aus jungem Schabzieger v. Freudenreich und Jensen (1906).

Von allen diesen Stämmen habe ich den Nachweis erbracht, daß sie untereinander vollständig identisch sind und daß eventuell beobachtete

Verschiedenheiten, welche sie untereinander zeigen, ausschließlich als fluktuierende Variationen zu betrachten sind, da diese Verschiedenheiten nicht nur zwischen den verschiedenen Stämmen, sondern in genau derselben Weise auch innerhalb ein und desselben, hier unter Umständen sogar noch stärker zum Ausdruck kommen.

Einige Worte über die benutzten Originalkulturen[1].

Stamm A. Das Clostridium Pasteurianum war dem Herrn Prof. Arth. Meyer im Januar 1903 von Herrn Prof. Winogradsky aus Petersburg übersandt worden; es war dann hier in stickstofffreie Nährlösung abgeimpft und in mehreren kleinen zugeschmolzenen sauerstofffreien Röhrchen in derselben aufbewahrt worden. Zu meinen Versuchen dienten zwei verschiedene Abimpfungen. Die eine (α) war seit 1904 auf D-Agar in Kultur und sehr geschwächt, sie bildete nur noch sehr selten und langsam Sporen aus. Ich habe sie dann wieder auf die gleich zu beschreibende Weise gekräftigt. Die zweite Kultur (Stamm A β) bestand aus einem der oben genannten Röhrchen mit der direkten Abimpfung aus der Winogradskyschen Originalkultur. Dieses letztere Material benutzte ich für die Stickstoffassimilationsversuche.

Stamm B. Das Clostridium americanum Pringsheim (1906, 1908) erhielten wir von Herrn Dr. H. Pringsheim im Frühjahr 1906 aus Göttingen[2]. Die (Kartoffel-) Kultur bestand vorwiegend aus Sporenmaterial. Dasselbe wurde nach jedesmaligem 5 Minuten langem Erhitzen auf 80° auf D-Agar im Vakuum bei 1 mg Sauerstoff im Liter weitergezüchtet.

Stamm C und D. Die Clostridien α und β Haselhoff et Bredemann stammten aus der hiesigen landwirtschaftlichen Versuchsstation. Die gut Sporen bildenden Originalstämme waren in stickstofffreier Nährlösung aufbewahrt. Sie wurden hier auf D-Agar weitergezüchtet.

Stamm E. Bac. amylobacter I Gruber ist der Grubersche Originalstamm (1887), den uns Herr Prof. Grassberger in Wien am 13. Nov. 1906 freundlichst überließ. Er wurde, wie die übrigen, auf D-Agar weitergezüchtet und zeichnete sich durch gute Sporenbildung aus.

Stamm F. Bac. saccharobutyricus v. Klecki (1896) erhielten wir am 3. April 1906 von Herrn Prof. Dr. v. Klecki aus Krakau in einer Gelatine- und Agarkultur. Die Kulturen bestanden bei der Ankunft mikroskopisch aus ziemlich langen, etwas krankhaft aussehenden unbeweglichen Stäben mit streckenweiser Glykogeneinlagerung. Sporen waren auch nach 8-wöchiger Aufbewahrung nicht entstanden. Es wurde direkt auf D-Agar abgeimpft, auf welchem Nährboden ein kräftiges Wachstum eintrat, jedoch blieb die Sporenbildung aus. Das Aussehen der Individuen war krankhaft, meist vielfach hin und her gewundene Stäbe mit streckenweiser Glykogenspeicherung[1]). Es gelang dann auf die gleich zu beschreibende Weise, ihn auf Kartoffelkulturen wieder zu kräftigen.

---

[1] Nachdem die Arbeit fast fertiggestellt war, erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit der Herren Prof. E. Buchner und Prof. J. Meisenheimer in Berlin eine Originalkultur des alten Buttersäurebacillus Fitz (1878—1884), welche zu den Untersuchungen von E. Buchner und J. Meisenheimer „Ueber Buttersäuregärung“ (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XLI. 1908. p. 1410) verwendet worden war. Es war mir leider nicht mehr möglich, diesen Stamm noch mit in den Bereich meiner Untersuchungen zu ziehen. Vorläufig angestellte Untersuchungen lassen es mir aber als höchstwahrscheinlich erscheinen, daß auch dieser Stamm mit unserem Bac. amylobacter identisch ist. Es sei auch hier schon erwähnt, daß auch er durch die Erdpassage leicht zur Gärung in stickstofffreier Lösung gebracht werden kann (s. Kap. IV).

[2] Nachträgliche Bemerkung: In seinen Angriffen hält es H. Pringsheim für angebracht, den Verf. auch persönlich zu verdächtigen. Welcher Mittel er sich hierzu bedient, zeigt unter anderem folgende von ihm beliebte Verdrehung der Tatsachen. Seine Angriffe beginnen mit den Worten: „Vor einiger Zeit sandte ich Herrn G. Bredemann auf seinen Wunsch eine Kultur des von mir isolierten, den Luftstickstoff bindenden Clostridium americanum“. Demgegenüber stelle ich nun fest, daß ich die Kultur im Frühjahr 1906 erhielt — die genaue Zeit vermag ich nicht anzugeben, da das Begleitschreiben kein Datum trägt — d. h. ca. $^1/_2$ Jahr vor Erscheinen der Mitteilung H. Pringsheims über die Stickstoffbindungsfähigkeit seines Stammes. Mein Schreiben mit der Bitte um Ueberlassung seiner Kultur ging, wie aus meinem Arbeitsjournal hervorgeht, am 12. März 1906 an Pringsheim ab, und zwar unter der Adresse: Chemisches Laboratorium der Harvard-Universität Cambridge Mass. U. S. A. Mein Wunsch lautete auf Ueberlassung seiner in der aus dem chemischen Laboratorium der Harvard-Universität hervorgegangenen Mitteilung: „Ueber den Ursprung des Fuselöles und eine Alkohole bildende Bakterienform“ erwähnten Bakterie und nicht auf Ueberlassung seines stickstoffbindenden Clostridiums, denn die erste Mitteilung H. Pringsheims über die Stickstoffbindungsfähigkeit seiner Bakterie erschien erst Ende 1906, also ca. $^3/_4$ Jahre nach Absendung meines Briefes.

Stamm G. Gasphlegmonebacillus. Die Kultur desselben verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Privatdozenten Dr. Moro in Graz. Herr Dr. Moro schrieb am 17. März 1906: „.... und übersende Ihnen zugleich den Gasphlegmonebacillus Fränkel (identisch mit dem unbeweglichen Buttersäurebacillus von Grassberger und Schattenfroh). Ich besaß keine Kulturen mehr und mußte daher die Arten frisch aus Säuglingsstuhle züchten. Die Kultur des beweglichen Buttersäurebacillus ist etwas kompliziert, sie gelang mir diesmal nicht. Doch werden Sie, wenn Sie sich darum interessieren, mittels des Beijerinckschen Verfahrens sicher zum Ziele kommen." Die übersandte Agarstichkultur bestand nur aus Stäben. Dieselben wurden auf D-Agar übertragen und bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter und 28° gehalten. Nach 6 Wochen bestand die Kultur ausschließlich aus unbeweglichen dicken Stäben ohne Sporen. Durch fortgesetzte systematische Züchtung (s. u.) gelang es, auch diesen „unbeweglichen Buttersäurebacillus" in eine lebhaft bewegliche, gut sporenbildende Form überzuführen, die sich mit den übrigen untersuchten Stämmen des Bac. amylobacter als völlig identisch herausstellte[2]).

Stamm H. Granulobacter butylicum Beijerinck (1896). Die Originalkultur erhielten wir im Oktober 1906 von Herrn Prof. Beijerinck. Derselbe übermittelte uns in liebenswürdigster Weise zwei Kulturen, eine in Nährlösung mit Kreidezusatz und eine, welche aus präzipitiertem trockenen Sporenmaterial bestand. Die Aussaaten beider auf D-Agar ergaben dasselbe Bild. Sporenbildung trat in beiden Kulturen reichlich ein. Ich bin bei meinen weiteren Versuchen von der ersteren Kultur in Nährlösung ausgegangen.

Stamm J. Granulobacter pectinovorum Beijerinck und van Delden (1906). Die Originalkultur erhielt ich zu gleicher Zeit mit der des Granulobacter butylicum von Herrn Prof. Beijerinck. Sie befand sich in einem mit Nährlösung und Kreidezusatz gefüllten zugeschmolzenen Glasröhrchen. Im Niederschlage waren reichlich Sporen vorhanden. Dieselben wurden auf D-Agar ausgesät und bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff und 28° gehalten. Nach 4 Wochen bestand die Kultur vorwiegend aus sich mit Jod violett färbenden Sporangien, welche an einem Ende eine Sporenanlage enthielten. Zur Ausbildung von normalen Sporen kam es jedoch nur selten, meist waren die entstehenden freien Sporen anormal groß, matt und scheinbar ausgesogen. Alle Sporen trugen noch größere Reste der Sporangienmembran an sich.

Stamm K und L. Diese Stämme verdanke ich Herrn Prof. Orla Jensen, damals Liebenfeld bei Bern. Ich erhielt sie am 6. Dez. 1906. Sie sind isoliert worden aus jungem Schabziegerkäse (Stamm K) und aus altem Schabzieger (Stamm L) und in der Arbeit von v. Freudenreich und Jensen „Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung" (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 225) kurz beschrieben. Beide wurden, wie gewöhnlich, auf D-Agar weitergezüchtet. Ihr morphologisches Aussehen war fast gleich, beide neigten zur Ausbildung sehr langer Stäbe und bildeten nicht reichlich Sporen, ihre Schwärmfähigkeit war sehr schwach. Sie haben diese Eigenschaften trotz meiner Bemühungen, sie zu einer normalen Sporenbildung zu bringen, bis zu einem gewissen Grade bis jetzt beibehalten, obgleich sie jetzt den Entwickelungszyklus von Spore zu Spore viel regelmäßiger durchführen, reichlich Sporen bilden und auch kräftiger schwärmen. Es liegt auch hier, wie wir sehen werden, kein Grund vor, sie nicht ebenso wie alle anderen untersuchten Stämme als mit unserem Bac. amylobacter identisch zu erklären.

Ursprünglich bestand die Absicht, diese Untersuchungen noch auf eine möglichst große Anzahl anderer Originalstämme von mit dem Bac. amylobacter scheinbar nahe verwandten, in der Literatur als selbständige Species angesehenen Arten auszudehnen. So verdanke ich Herrn Dr. Antonio Rodella seinen Käsebacillus Stamm A und B

---

[1]) Die kurze morphologische Beschreibung, die v. Klecki von seinem Bacillus gibt, läßt darauf schließen, daß auch er keine ganz gesunden Individuen kultivierte.

[2]) Der Stamm erwies sich als für Meerschweinchen nicht pathogen, auch die Stämme 56, 84 und H, welche Meerschweinchen subkutan injiziert wurden, riefen keine Krankheitserscheinungen hervor.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

(1906), Herrn Prof. van Ermengem den Bac. botulinus (1897), Herrn Dr. Moro einen Bac. putrificus-Stamm, Herrn Dr. Bienstock die Originalstämme seines Bac. putrificus und paraputrificus (1884—1906), Herrn Prof. Grassberger zwei „dimorphe Buttersäurebacillen“, einen Stamm von Bac. putrificus und den Rauschbrandbacillus, Herrn Dr. Passini zwei Gasphlegmonestämme (Original Fränkel und Original Rodella). Leider mußte der Plan, alle diese Kulturen mit zu den Untersuchungen heranzuziehen, einstweilen aufgegeben werden, da sich das Material zu sehr häufte. Ich hoffe, später Gelegenheit zu haben, auch diese Stämme einer Bearbeitung zu unterziehen.

IV. Art der Weiterzüchtung der selbst isolierten Stämme und der Originalkulturen anderer Autoren.

Die Art der Reinkultivierung der verschiedenen aus verschiedenem Materiale selbst isolierten Stämme ist früher mitgeteilt worden. Waren auf der Platte die gesuchten Kolonieen des Bac. amylobacter entstanden, so wurde aus diesen auf D-Agar übertragen und die Röhrchen im Vakuum bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter und bei einer Temperatur von 28° gehalten. Nach ca. 1—4 Wochen wurden sie untersucht, waren freie Sporen, wenn auch nur wenige vorhanden, so wurden sie in sterilem Wasser verteilt, 5 Minuten auf 80° erhitzt und auf neuen D-Agar übertragen und dieses Verfahren ca. $^1/_2$ Jahr lang geübt. Während die ganz frischen Stämme nur sehr langsam und unregelmäßig zur Sporenbildung kamen, ging mit fortgesetzter Abkochung und Ueberimpfung der Entwickelungsgang von Spore zu Spore immer rascher und vollkommener zu Ende, bis derselbe endlich einen völlig regelmäßigen Verlauf nahm. Dabei wurde auch das Aussehen der Morphoden viel gleichmäßiger (s. u.). Auch bei weiterer Kultivierung, also auch dann, wenn die Kulturen zu einem regelmäßigen Entwickelungszyklus gebracht waren, mußte bei Ueberimpfungen dies Abkochen stets gehandhabt werden. Versäumte ich es bisweilen, so war die Wirkung oft eine sofortige. Die so überimpfte Kultur bestand nur aus Mikrooidien. Es ist kaum glaublich, wie diese Wirkung oft schnell eintritt, und man sieht, daß man bei Kultivierung dieser hochempfindlichen Organismen nicht die geringste Vorsichtsmaßregel außer acht lassen darf. Bevor ich alle diese Umstände nicht kannte, habe ich viel mit Mißerfolgen zu kämpfen gehabt; seit strengem Innehalten dieser Abkochungsmethode, welche im botanischen Institute bisher ja auch immer geübt worden ist, sind mir Schwierigkeiten nicht mehr entgegengetreten.

Es muß übrigens betont werden, daß nicht alle Stämme gleich schnell degenerieren und daß sich diese Degenerationserscheinung auch nicht nur in der Mikrooidienbildung äußert. Viele Stämme, z. B. Stamm B (Cl. americanum Pringsheim), Stamm C und D (Cl. α und β Haselhoff et Bredem.), Stamm E (Bac. amylobacter Gruber), Stamm H (Granulob. butylic. Beijerinck) lassen sich sehr oft auch ohne Abkochen überimpfen, ohne daß eine Degeneration zu bemerken war, ausgenommen vielleicht ein langsames und unregelmäßiges Zustandekommen des Entwickelungszyklus. Bei anderen Stämmen wieder, zu diesen Stamm Aα (Cl. Pasteurian.), Stamm K und L (Buttersäurebacillus aus Schabzieger), Stamm J (Granulob. pectinovor. Beij. et van Delden) trat eine Benachteiligung sofort zutage, sobald das Abkochen unterlassen wurde; die Sporenbildung trat dann meist ganz zurück und man fand noch nach Monaten fast oder ganz ausschließlich vegetative Formen, bisweilen mit Sporenanlagen. Andere Stämme wieder reagierten mit Mikrooidienbildung, so vorzüglich Stamm F (Bac. saccharobutyricus v. Klecki).

Schon in bezug auf diese Eigenschaft tritt uns das sehr schön entgegen, was wir später an anderen Eigenschaften noch viel besser beobachten können, daß nämlich kein einziger unserer vielen Stämme durch irgend eine, nur ihm allein zukommende Eigentümlichkeit ausgezeichnet ist. Tritt bei einem einmal eine solche scharf hervor, wird sie in schwächerer Weise auch bei anderen Stämmen bemerkbar sein.

Das erwähnte schnellere oder langsamere Eintreten der morphologischen Degeneration scheint im engen Zusammenhange zu stehen mit der „Vorbehandlung“ der Kultur. Die selbst isolierten Stämme und auch die oben erwähnten Originalstämme erwiesen sich, einmal zu einer guten Sporenbildung gebracht, als sehr konstant. Anders einige andere Originalstämme. Bei Aufzählung der zur Untersuchung benutzten Reinkulturen wurde schon mitgeteilt, daß einige derselben beim Erhalt scheinbar mehr (Stamm A α, F, G) oder weniger (Stamm I, K, L) asporogen waren, sie wichen in dieser Beziehung wesentlich von den anderen Originalstämmen und auch von den selbst isolierten Stämmen ab, und ich habe einige derselben in der ersten Zeit für besondere Species gehalten. Dann ging ich daran, zu versuchen, ob sie durch systematische Behandlung wieder zu einer regelmäßigen Sporenbildung zu bringen seien.

Diese Versuche glückten in sehr schöner Weise. Durch die Arbeiten von Passini (1906) und von Grassberger und Schattenfroh (1907) ist es bekannt, daß es verhältnismäßig leicht gelingt, sogenannte asporogene „Gasphlegmone“-Stämme oder auch den „unbeweglichen Buttersäurebacillus“ durch Kultivierung auf Eiweißnährböden wieder zur Sporenbildung zu bringen, auch mit dem Bac. putrificus gelingt das, wie ich mich überzeugte, gut. Bringt man nun aber diese sporulierenden Stämme auf Zuckeragar, so verlieren sie auf diesem Substrate das Vermögen, Sporen zu bilden, bald wieder; durch Kultivierung auf Eiweiß sind sie dann leichter oder schwerer wieder sporenbildend zu machen. Das konnte mir natürlich nichts nützen, ich wollte Stämme haben, die alle auf demselben Nährboden, und als solcher hatte sich für die selbst isolierten Stämme D-Agar gut bewährt, zu kultivieren waren.

Die Versuche, die scheinbar ganz asporogenen Stämme (A α, F, G) durch häufiges Umimpfen auf D-Agar an den Nährboden zu „gewöhnen“ und wieder zur Sporenbildung zu bringen, mißglückten, wie vorauszusehen war, gänzlich, sie veränderten sich nur noch weitgehender, bildeten lange dünne Fäden und endlich Mikrooidien. Auch die Stämme J, K und L, bei denen unter vielen vegetativen Formen immer einige Sporen zu finden waren. waren durch wiederholtes Abkochen der Sporen und Ueberimpfen auf neuen D-Agar nicht wieder merklich zu kräftigen, im Gegenteil veränderte sich Stamm J (Gran. pectinovor.) mehr und mehr, er bildete wohl in Sporangien Sporenanlagen in reichlicher Menge aus, aber die Sporen kamen nicht zur Reife, wurden sie frei, so waren sie matt, hohl und nicht zum Keimen zu bringen. Nach wiederholten Hin- und Herversuchen erzielte ich dann in folgender Weise einen vollen Erfolg. Alle anormalen Originalstämme wurden auf mit Kalk eingeriebene sterile Kartoffelstücke, welcher Nährböden sich für die selbst isolierten Stämme als ganz vorzüglich erwiesen hatten, gebracht und bei 1 mg Sauerstoff im Liter und 28° gehalten. Bei Stamm A α (Clostr. Pasteur.) und J (Gran. pectinovor.) war der Erfolg ein sofortiger: Es wurden auf diesem Nährboden unter kräftiger Vergärung massenhaft normale

Sporen ausgebildet, bei den anderen Stämmen (F saccharobutyr. und G Gasphlegm.) war ein Erfolg aber auch insoforn zu verzeichnen, als unter vielen Oidien nach mehrwöchigem Stehen immer einige vereinzelte Sporen zu finden waren, auch bei den Stämmen K und L (Schabzieger) war die Sporenbildung besser, als auf D-Agar. Sobald nun nur einige Sporen gefunden wurden, wurden größere Mengen der Kultur in sterilem Wasser verteilt, 10 Minuten auf 80° erhitzt und wieder auf Kartoffel überimpft. Dieses Ueberimpfen wurde mit jedesmaligem Abkochen wohl mehrere Dutzend Male wiederholt. Der Erfolg dieser Operation war augenscheinlich, allmählich trat auf Kartoffel bei allen Stämmen eine gute Sporenbildung ein. Nachdem die Stämme so weit gebracht waren, wurden sie, immer unter vorherigem Abkochen des reifen Sporenmateriales, wieder auf D-Agar zurückgebracht, und es ergab sich die erfreuliche Tatsache, daß sie auch hier die Sporenbildung beibehielten. Das Abkochen und Ueberimpfen auf D-Agar wurde nun ebenso, wie bei den selbst isolierten Stämmen andauernd wiederholt, und es ist so gelungen, sie ebenso, wie die selbst isolierten, zu einer glatten Sporenbildung und lebhaften Beweglichkeit zu bringen, so daß sie sich auch in dieser Beziehung nicht mehr von ihnen unterscheiden. Relativ am trägsten verhalten sich die Stämme K und L (Schabzieger), welche immer noch am unregelmäßigsten die Sporen ausbilden, aber doch schon bedeutend regelmäßiger und reichlicher, als zuerst, und es ist wohl zu erwarten, daß auch sie nach längerer Kultur sich nicht mehr von den übrigen unterscheiden werden. Dieses Resultat war besonders interessant für den „Gasphlegmone“-Stamm, den wir als identisch mit dem „unbeweglichen Buttersäurebacillus“ Grassberger und Schattenfroh erhalten hatten, und der jetzt in einen lebhaft beweglichen, gut sporenbildenden und, wie wir sehen werden, Stickstoff bindenden Bac. amylobacter übergeführt war.

Ob sich das von mir geübte Verfahren, fast[1]) oder ganz asporogen gewordene Stämme durch Kultivierung auf mit Kreide eingeriebener Kartoffel wieder zur glatten Sporenbildung zu bringen, für den Bac. amylobacter ganz allgemein durchführen läßt, darüber kann ich nichts sagen, weil sich meine Erfahrungen nur auf die wenigen Stämme beziehen, die ja dadurch alle wieder zur kräftigen Sporenbildung gebracht wurden. Vielleicht ist die günstige Wirkung des verwendeten Nährbodens besonders dem Kreidezusatz zuzuschreiben, denn wir werden sehen, daß der Bac. amylobacter sehr empfindlich gegen Säure ist. Einen ähnlichen Nährboden benutzten auch Schattenfroh und Grassberger (1900); diese konnten durch Kultivierung auf alkalischem Stärkekleister-Agar ihren „unbeweglichen Buttersäurebacillus“ zu „einer reichlichen und sicheren Versporung anregen“. Denselben Nährboden be-

---

1) Eine interessante Mitteilung über die von ihnen geübte Kräftigung geringe Neigung zur Sporenbildung zeigender Stämme ihres „beweglichen Buttersäurebacillus“ findet sich bei Grassberger und Schattenfroh (1902. p. 248): „Ist das Versporungsvermögen noch nicht völlig verloren gegangen, so lassen sich durch reichliches Ueberimpfen von Material z. B. in Zuckeragar, und bei mehrmaliger Wiederholung des Vorganges unter fortwährender mikroskopischer Kontrolle und Auswahl sporenreicher Vegetationen zur Weiterimpfung Vegetationen erzielen, die ihrerseits wieder unter Umständen die Neigung zur Versporung mehr oder minder hartnäckig festhalten, ja selbst unter Verhältnissen, die sonst der Versporung ungünstig sind. Bei diesem Wiederanzüchten von Neigung zur Versporung macht es keinen Unterschied, ob man in dem Material, das man zu Ueberimpfungen verwendet, die vegetativen Formen durch Erhitzen abtötet, oder nicht.“ Diesen letzten Punkt habe ich nun bei meinen Versuchen gerade als sehr wesentlich gefunden.

nutzte Albrecht (1902), um eine Versporung des Gasphlegmonebacillus mit Erfolg herbeizuführen.

Man wird aus den vorher erwähnten Beobachtungen gesehen haben, wie die einmal erworbene Neigung zur Asporogenie scheinbar vererblich sein kann. Auch diese Erscheinung war bei den verschiedenen Stämmen wieder sehr verschieden stark ausgeprägt. Die größte Neigung hierzu zeigten die Stämme K und L (Schabzieger), die ja, wie erwähnt, auch noch nicht völlig „gekräftigt" waren, diesen schloß sich Stamm Aα (Clostr. Pasteur.) an, auch Stamm J (Gran. pectinovor.) zeigte noch Neigung, wieder zur Asporogenie „zurückzuschlagen", während Stamm G (Gasphlegmone) und Stamm F (Bac. saccharobutyr.) scheinbar relativ konstant geworden waren, wenigstens ebenso konstant wie die übrigen von mir selbst isolierten Stämme bezw. die übrigen konstanten Originalkulturen.

Auf Taf. II Fig. 8—16 sind einige Morphoden dieses Bac. amylobacter Stamm J (Gran. pectinovor.) vor der „Kräftigung" abgebildet, in welche Formen er auch nach der Kräftigung zurückzuschlagen Neigung hatte. Man erkennt die in der Entwickelung stehen gebliebenen Sporangien, die allerdings zum Teil Anlagen von Sporen in sich haben, welch letztere aber nicht zur normalen Ausbildung gelangen. Die Stellen bleiben matt und glanzlos, bisweilen werden einige Sporen frei, doch sind sie anormal groß und blasig, allerdings mit erkennbarer Exine und Intine (Fig. 14). Fig. 16 ist eine normale gesunde Spore. Ein Erhitzen vertragen sie nicht, und es ist anzunehmen, daß sie nicht zur Keimung fähig sind. In einigen „Sporangien" werden überhaupt keine Sporen mehr ausgebildet, entweder ist die Stelle, an der die Spore zu entstehen pflegt, ganz oder teilweise mit Glykogen gefüllt (Fig. 8 und 12) oder auch leer, im letzteren Falle bisweilen mit einer dünnen Membran vom übrigen Teil des Sporangiums abgegrenzt (Fig. 13). Man vergleiche hierzu die Abbildungen (Photographieen), die Beijerinck und van Delden (1906) von demselben Stamme geben. Es scheint mir, als ob dieselben mit meinen genau korrespondierten, als ob also Beijerinck und van Delden denselben „abgeschwächten" Zustand abbildeten, wenigstens entsprechen die in Fig. 2 — auf Würzeagar — abgebildeten Formen genau unseren Fig. 8 und 12. Die von Beijerinck und van Delden in Fig. 4 abgebildeten Formen ihres Granulobacter urocephalum, welcher wahrscheinlich auch mit Bac. amylobacter identisch sein dürfte, zeigen dasselbe Aussehen unserer Fig. 9, 10, 11, 13, 16, auch dort scheinen matte, anormale Sporen vorhanden zu sein.

Auf den großen Einfluß der „Vorbehandlung" der Kultur machen auch Grassberger und Schattenfroh (1907) und Grassberger und Passini (1902) wiederholt aufmerksam, sie weisen darauf hin, „daß bei diesen hochempfindlichen Bakterien — ihrem beweglichen Buttersäurebacillus, der mit unserem Bac. amylobacter wahrscheinlich identisch sein dürfte — die Folgen der Einflüsse des Züchtens auf verschiedenen Nährböden sehr rasch erblich übertragbar sind, 2 Kulturen, welche von derselben Kolonie abstammen, können bereits in der vierten Generation, je nachdem sie inzwischen wiederholt auf Zuckergelatine oder auf Zuckeragar überimpft wurden, nun bei Rückimpfung auf einem und demselben Nährboden verschiedene Formen aufweisen, noch mehr aber kann der Chemismus dieser beiden Stämme abweichen". Und weiter (1907 p. 45): „Wir machten in unseren Studien über den Rauschbrandbacillus wiederholt darauf aufmerksam, daß die Variationsbreite des Polymorphismus dieser Bakterienart, sobald wir sie aus dem originären Material herausgezüchtet haben, in hohem Grade abhängt von der Art und Weise der Isolierungsmethode, daß insbesondere die Zusammensetzung der Nährböden, auf welchen die primären Kolonieen zur Entwickelung gebracht werden, der Umstand, ob und wann man in der Reihenfolge der Kulturen die Versuche einschaltet, von entscheidendem Einflusse auf die weiteren Schicksale der Kulturen sind".

Die Untersuchungen, welche wir Grassberger und Schattenfroh (1900—1907) über die anaëroben Buttersäurebakterien verdanken, sind besonders dem morphologischen und physiologischen Verhalten solcher Individuen bezw. Generationen gewidmet, „die dem natürlichen Zustande sehr nahestehen und den künstlichen Züchtungsbedingungen noch nicht durch generationsweise fortgesetzte Züchtung auf Laboratoriumsnährböden völlig angepaßt sind", während meine Untersuchungen sich gerade umgekehrt nur mit solchen Stämmen befassen, die den Kultivierungsbedingungen weitgehendst angepaßt sind. Es ist daher bei einer eventuellen Nachprüfung meiner Befunde von sehr großer Wichtigkeit, die Kulturmethode genau innezuhalten. Außerdem ist es bei dieser Species absolut nötig, neu aus dem natürlichen Substrate isolierte Formen vor der eingehenden Bearbeitung nicht, wie es im allgemeinen für die meisten sporenbildenden Bakterien ausreicht, 4 Wochen auf D-Agar zu kultivieren (Arthur Meyer 1903, Gottheil 1901, Neide 1904, Garbowski 1907), sondern eine solche Kultur auf D-Agar bei 1 mg Sauerstoff im Liter annähernd 6 Monate hindurch fortzusetzen, denn erst nach dieser Zeit wurden meine Formen so konstant, daß sie alle einen Vergleich zuließen. Mit diesen durch eine solche langdauernde gleichmäßige Vorbehandlung konstant gemachten Kulturen werden dann auch alle Resultate — morphologische und physiologische — zu erhalten sein, die ich später gefunden habe.

Ich möchte jetzt zunächst die bei meinen Untersuchungen angewandte Methodik kurz zusammenfassend mitteilen, um bei späteren Gelegenheiten auf das folgende Kapitel verweisen zu können.

Kapitel II.

Methodisches.

Im allgemeinen wurde nach der von Arthur Meyer (Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena, Gustav Fischer, 1903) und seinen Schülern (Gottheil 1901, Neide 1904, Wund 1906) ausgearbeiteten bewährten Methoden und Vorschriften verfahren.

Die Nährböden und Nährlösungen wurden nach den Angaben von Arthur Meyer (Praktikum) und Gottheil (Dissertation 1901. p. 3) bereitet. Wenn in irgend einer Richtung von diesen Methoden abgewichen oder andere Nährböden Verwendung fanden, so wird dies in der Arbeit stets mitgeteilt werden.

Unter D-Agar ist stets ein Nähragar zu verstehen, der 1,0 Proz. Dextrose, 1,2 Proz. Pepton Witte, 0,8 Proz. Liebigs Fleischextrakt, 0,2 Proz. Chlornatrium und 1,6 Proz. Agar enthält. Der Agar wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert. Besonderer Wert ist für die Züchtung des Bac. amylobacter auf die Reaktion zu legen. Dieselbe wurde stets ein wenig alkalisch gewählt, so, daß nach erfolgter Sterilisation hochempfindliches Lackmuspapier[1]) noch eben gebläut wurde.

---

[1]) Als vorzüglich empfindliches Lackmuspapier verwenden wir das der Chemischen Fabrik Helfenberg A. G. in Helfenberg bei Dresden, sogenanntes einseitiges Postpapier.

Um für die vergleichenden Untersuchungen einen Agar von stets möglichst gleichmäßiger Konzentration und Beschaffenheit verwenden zu können, wurde ein sogenannter „konzentrierter Stammagar“ bereitet: 215 g Fadenagar wurden 8 Tage lang täglich 3—4 Stunden in fließendem Leitungswasser gewässert, dann in so viel Leitungswasser gelöst, daß das Gesamtgewicht 10 Kilo betrug, mit Eiweiß geklärt und filtriert. Dieser „konzentrische Stammagar“ wurde in kleinen Gefäßen vor Verdunstung geschützt aufbewahrt. Um aus ihm einen 1,6 Proz. Agar enthaltenden D-Agar herzustellen, war es nur nötig, die zu 600 g D-Agar nötigen Ingredienzien — 7,2 g Pepton Witte, 6,0 g Dextrose, 4,8 g Liebigs Fleischextrakt, 1,2 g Kochsalz — in 200 g Wasser zu lösen und die schwach alkalisch gemachte, aufgekochte und filtrierte Lösung mit 400 g des vorher flüssig gemachten „konzentrierten Stammagars“ zu vermischen, um einen nach erfolgter Sterilisation gebrauchsfertigen D-Agar zu erhalten.

Was die Abkochung der Sporen vor jedem Umimpfen anbelangt, so wurde dieselbe, ebenso wie von Gottheil (1901) und Neide (1904) auch von mir stets angewandt. Die geringe Benachteiligung, die, wie Garbowski (1907) auch für Bac. tumescens und Bac. luteus zeigte, durch die Abkochung der Sporen hervorgebracht wird, hat mich nicht abgehalten, stets vor jeder Ueberimpfung ein Abkochen der Sporen vorzunehmen, weil der eventuelle geringe Nachteil dieser Methode¹) gegenüber dem Vorteil, der ja darin liegt, daß sich zur Nichtsporenbildung neigende Varianten nicht erhalten werden, gar nicht in Betracht kommt. Es ist nicht zu bezweifeln, daß es nur der vor jeder Ueberimpfung stattgehabten Abkochung — wegen der geringen Widerstandsfähigkeit der Bac. amylobacter-Sporen gegen Erhitzen nur 5 Minuten auf 80° C — zuzuschreiben ist, daß sich in den untersuchten Stämmen der Entwickelungszyklus von Spore zu Spore immer in glatter Weise vollzog, und es ist bei Nachprüfung dieser Resultate das größte Gewicht darauf zu legen, daß dies Abkochen innegehalten wird, weil sonst die Stämme bald zurückgehen werden.

Die Bestimmung der Tötungszeit der Sporen bei 100° geschah genau in der im „Praktikum der botanischen Bakterienkunde“ auf p. 128 angegebenen Weise. Die jeweilig angegebenen Daten bedeuten also die mittels Chronoskops genau abgelesene Zeit vom Eintauchen der ca. 1 cm hoch mit dem in sterilem Leitungswasser verteilten Sporenmateriale beschickten, 8—9 cm langen und innen 8—9 mm weiten Röhrchen, die eventuell zu mehreren in einer durchlochten, ca. 1 cm dicken Korkplatte von 8—9 cm Durchmesser gesteckt wurden. Daß die so erhitzten Röhrchen sofort nach dem Herausnehmen in kaltes Wasser eingesetzt und der über dem Inhalt befindliche Teil der Glaswandung vor dem Uebergießen des Inhaltes auf D-Agar gut abgeglüht wurde, versteht sich wohl von selbst.

Zur Bestimmung der Tötungszeit der Sporen bei 80° und zum „Abkochen“ derselben wurde der ebenfalls im Praktikum 1903 beschriebene Apparat — modifizierter Victor Meyerscher Trockenapparat — benutzt. Als Siedeflüssigkeit diente ein Gemisch von 7 Vol. Aethylalkohol + 4 Vol. Propylalkohol. Im übrigen wurde wie beim Abkochen bei 100° verfahren. Es ist ohne weiteres klar, daß bei diesem Verfahren die Sporen nicht während der ganzen vom Chronoskop abgelesenen Zeit einer Temperatur von 80° ausgesetzt sind, denn einmal

---

1) Vergl. hierzu bei Kap. III: Versuche mit abgekochtem und nicht abgekochtem Sporenmateriale.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

dauert es eine Weile, bis der Inhalt der Röhrchen durch und durch erhitzt ist und ferner wird das Wasser im Apparat durch die Korkplatte und die kalten Röhrchen etwas abgekühlt werden. Diese eventuellen Ungenauigkeiten sind jedoch so gering, daß sie bei längerer Erhitzungsdauer ohne weiteres vernachlässigt werden könnten, aber auch bei kürzeren Erhitzungszeiten, vielleicht bis 5 Minuten, spielen sie keine Rolle, wenn man nur bei allen Versuchen gleichmäßig in derselben Weise verfährt. Angestellte Versuche ergaben, daß bei Benutzung der erwähnten Korkplatte die Temperatur in den Röhrchen betrug

nach ca. 10" (11" 12" 8") = 60°
" " 20" (20" 20" 18") = 70°
" " 30" (31" 33" 30") = 75°
" " 50" (50" 50" 45") = 77,5°
" " 1' (1' 1,10' 55") = 78,5°
" " $1^1/_2$' (1,30' 1,20') = 79°
" " 3' (3' 3') = 79,5°

Bis die Temperatur im Innern allerdings wieder genau auf 80° steigt, vergehen meist 5—6 Minuten, doch spielt diese kleine Differenz natürlich keine Rolle, praktisch würde also die Temperatur nach 30—50" wiederhergestellt sein, so daß z. B. bei 10' langer Abkochung die Sporen nur $9^1/_4$' einer Temperatur von 80° und ca. $^3/_4$' einer solchen von durchschnittlich 70° ausgesetzt sind.

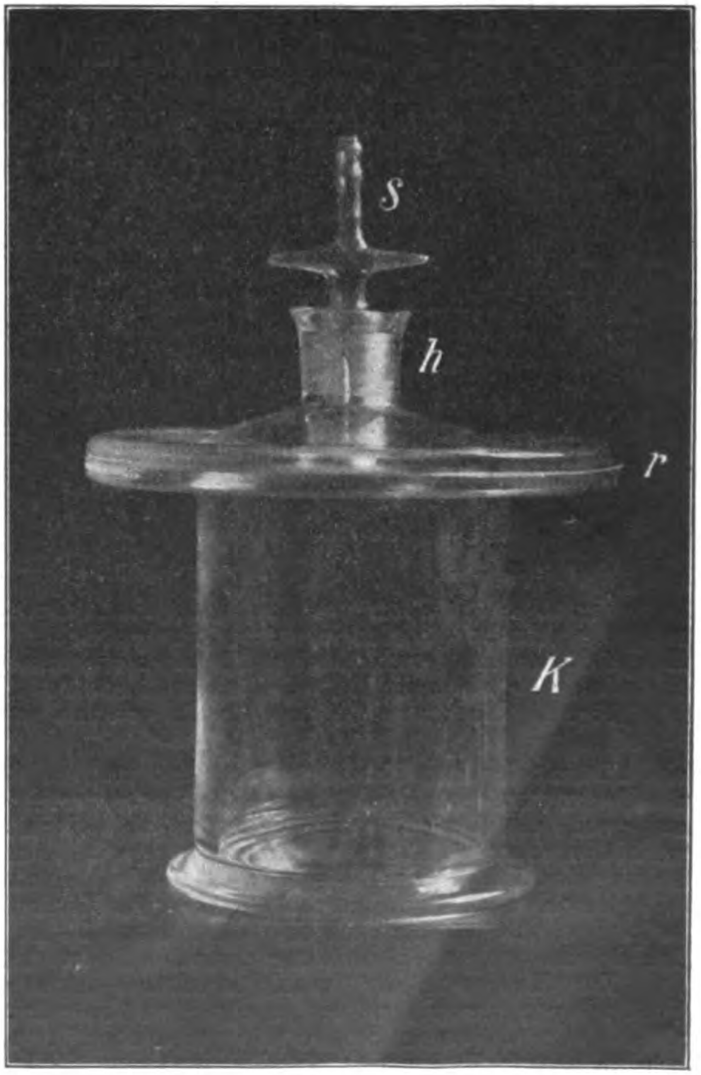


Fig. 1. Kulturvakuum nach Arth. Meyer. *K* Kulturgefäß, *r* Rand desselben, *h* Tubus des Deckels, *s* Hahnbolzen.

Zur Kultivierung unter verminderter Sauerstoffspannung wurde die von Arth. Meyer konstruierte und im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 337 genau beschriebene Apparatur benutzt. Bezüglich der Einzelheiten kann ich auf diese Abhandlung verweisen, die benutzten Apparate seien hier, ohne eingehend beschrieben zu werden, zum Teil nur nochmals abgebildet. Einige inzwischen neu konstruierte Apparate und einige von mir zur Bequemlichkeit des Arbeitens ausgearbeitete Tabellen, aus denen nach dem jeweilig abgelesenen Manometerstand

direkt der Sauerstoffgehalt im Kulturvakuum, auf Milligramm im Liter berechnet, abgelesen werden kann, dienen wesentlich zur Vervollständigung dieser Anaëroben-Apparatur, welche jetzt wohl als vollkommen bezeichnet werden kann, und seien hier eingehender beschrieben.

Als Kulturgefäß diente das in Fig. 1 abgebildete sogenannte Kulturvakuum (Meyer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905). Es ist dies ein gläserner, besonders konstruierter Exsikkator von ungefähr 1200 ccm Inhalt.

Es kam bei den Kulturvakua alter Konstruktion bisweilen vor, daß der Verschlußhahn *s* sich schwer öffnen ließ. Die Apparate werden daher neuerdings von der Firma Franz Hugershoff in Leipzig, Carolinenstr. 13, mit einem mehr konisch versehenen Hahnbolzen versehen, wie ihn Fig. 2 in halber Größe darstellt. Seit Verwendung dieser Form haben sich uns Schwierigkeiten beim Oeffnen des Hahnes nie mehr entgegengestellt.

Diesen Kulturvakua haftete bislang noch ein Mangel an. Wenn ein solches Kulturgefäß längere Zeit ausgepumpt, besonders bei niedrigerer Temperatur gestanden hatte, kitteten sich die plan geschliffenen Ränder des Deckels und des Untergestelles derartig fest aneinander, daß es bisweilen mit der größten Schwierigkeit verbunden war, sie voneinander loszubringen. Der hauptsächlichste Grund dieser Schwierigkeit war der, daß man den Exsikkator beim Oeffnen nicht ordentlich festhalten konnte. Wir haben uns jetzt in sehr einfacher Weise geholfen, indem wir den in Fig. 3 abgebildeten Block zum Oeffnen der Kulturvakua haben herstellen lassen, dessen Konstruktion ohne weiteres aus der Abbildung klar sein dürfte. Dieser Block besteht aus Eichenholz, seine Größenverhältnisse sind folgende: unteres Brett Dicke 23 mm, Länge 380 mm, Breite 250 mm; eigentlicher Klotz Höhe 135 mm, Länge 235 mm, Breite 135 mm. Breite des halbkreisförmigen Ausschnittes zum Aufnehmen des Kulturvakuums 130 mm, Tiefe desselben 85 mm. Unten besitzt dieser Ausschnitt noch eine 13 mm tiefe Rinne zum Aufnehmen des unteren Fußrandes des Kulturvakuums. Die Handhabung ist folgende: Man schraubt das untere Brett mit Hilfe von vier kräftigen Schrauben an einen feststehenden Tisch oder dergleichen an, schiebt den zu öffnenden Exsikkator, nachdem man vorher den Hahn *h* (Fig. 1) geöffnet und nötigenfalls den Rand *r* mit der Bunsenflamme etwas angewärmt hat, von vorne in den Ausschnitt ein, hält mit der einen Hand den Block fest und schiebt mit der anderen, den Tubus *h* des Deckels umfassend und zugleich die Flache der Hand auf die Oberfläche des Deckels auflegend, den Deckel seitlich wagerecht ab. Nach Konstruktion dieses Blockes und nach Umänderung des oberen Hahnes haben wir nie mehr Schwierigkeiten in der Handhabung des Kulturvakuums gehabt, das Oeffnen geschieht glatt und leicht.

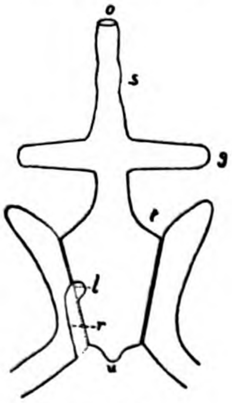


Fig. 2.

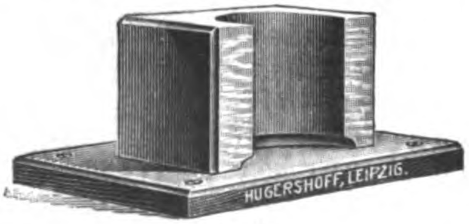

HUGERSHOFF, LEIPZIG.

Fig. 3.

Fig. 2. Neue Form des Tubus mit Hahnstopfen zum Kulturvakuum. *o* Oeffnung des Hahnes (Schlauchansatz), *g* zylindrischer Griff des Hahnes, *t* Rinne zum Eingießen des als Verschlußmittel dienenden wasserfreien Wollfettes, *l* Loch im hohlen Hahnbolzen, *r* Rinne im Tubus, *u* unteres Ende des Hahnbolzen.

Fig. 3. Block zum Oeffnen der Kulturvakua nach Arth. Meyer[1]).

Das Evakuieren geschah mit der im Institut befindlichen zweistiefeligen Oelluftpumpe, mit welcher sich eine Verdünnung bis zu 0,0002 mm erreichen lassen soll. Die Beschreibung und Abbildung derselben findet sich in der genannten Abhandlung.

Zur Messung der im Kulturvakuum herrschenden Drucke diente das von Prof. Meyer konstruierte und in derselben Abhandlung beschriebene Kulturmanometer (Fig. 4), ein an einem Stative hängendes abgekürztes Barometer. Wenn es auf besonders genaue Messungen ankam, so wurde an Stelle der sich oft durch die erzeugten Gase bräunenden und dadurch die Ablesung erschwerenden vernickelten Manometerskala eine gleiche vergoldete benutzt. Diese Kulturmanometer können nur zum Messen bis höchstens 95 mm Druck verwendet werden, was bei 18° und wasserdampfgesättigtem Raume einer Sauerstoffkonzentration von 29,3 mg im Liter, bei 28° einer solchen von 22,8 mg im Liter entsprechen würde.

---

[1]) Zu beziehen durch die Firma Franz Hugershoff in Leipzig.

Handelte es sich darum, höhere Sauerstoffkonzentrationen als diese zu messen, so verwendeten wir das von Prof. Arth. Meyer konstruierte Quecksilbermanometer (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 392), Fig. 5. Wir haben, um diesen Apparat zweckmäßig auch für Messungen von verdünnter Luft benutzen zu können, folgende Vorrichtung getroffen: Man setzt auf den Hahn des Kulturvakuums (*s* in Fig. 1 bezw. in Fig. 2) mittels guten Gummischlauches ein T-Rohr auf, welches an beiden Schenkeln je einen gut eingeschliffenen Glashahn trägt (Fig. 6 p. 414). Man öffnet diese beiden Hähne und den Hahn des Kulturvakuums, verbindet das eine Ende des T-Rohres mit dem Quecksilbermanometer, das andere mit der Luftpumpe bezw. mit der dieser vorgelegten Trockenröhre und pumpt nun bis zum gewünschten Manometerstand aus. Dann wird zunächst der Hahn des Kulturvakuums geschlossen und dann, nachdem auch beide Hähne des T-Rohres zugedreht sind, dieses vom Kulturvakuum abgenommen.

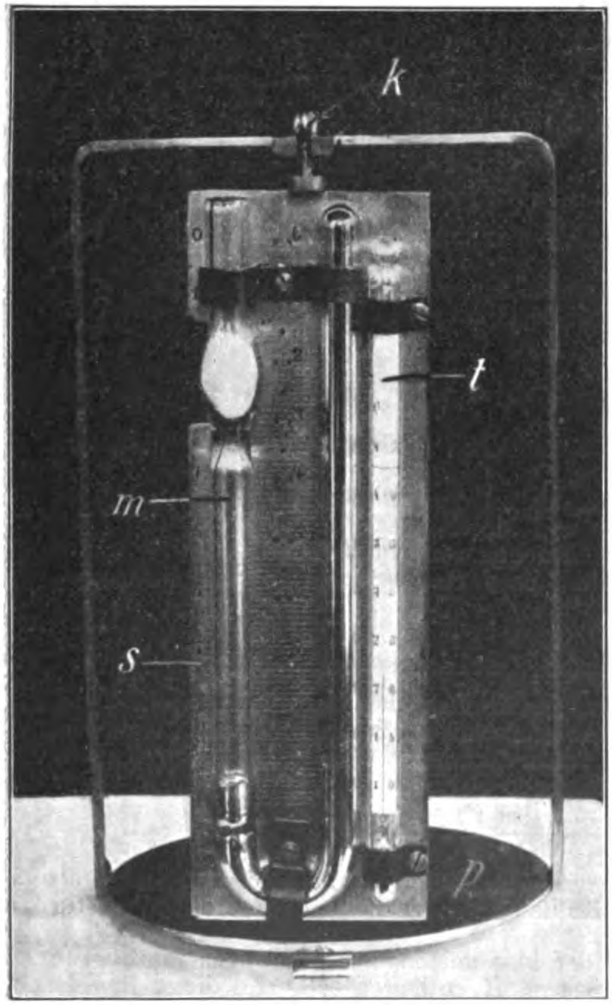


Fig. 4.

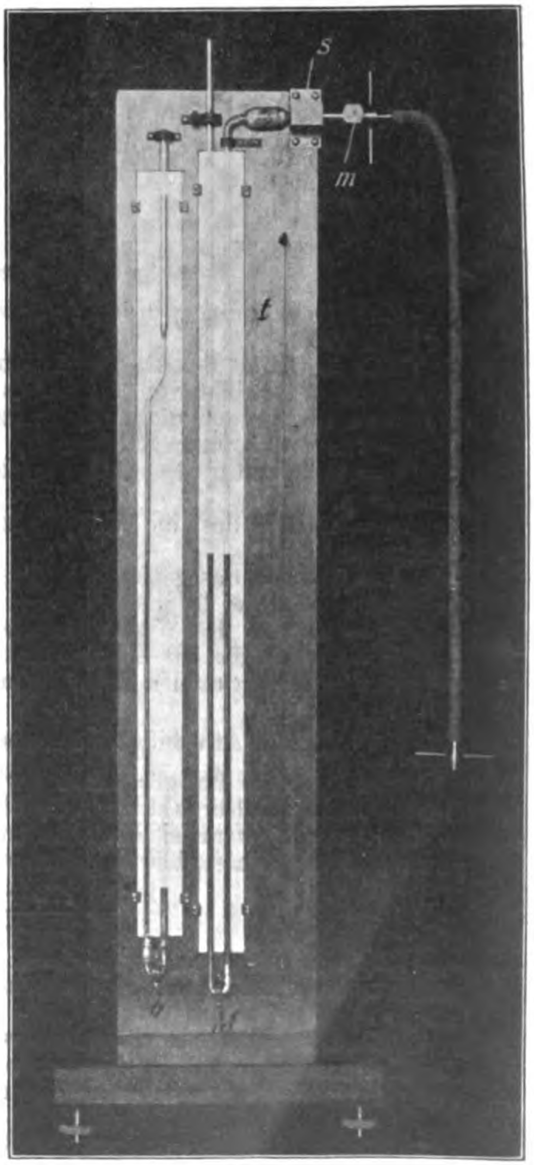


Fig. 5. Quecksilbermanometer.

Man hat, wenn man in dieser Weise verfährt, allerdings keine andauernde Kontrolle über den im Kulturvakuum herrschenden Druck, wie das bei Benutzung des Kulturmanometers, welcher sich im Kulturvakuum selbst befindet, der Fall ist, doch läßt sich der Druck jederzeit leicht kontrollieren. Zu diesem Zwecke setzt man das System Kulturvakuum, T-Rohr, Manometer und Luftpumpe wieder zusammen, öffnet nur die T-Rohrhähne und evakuiert, bis der Manometer den zu kontrollierenden Stand anzeigt, dann erst öffnet man den Hahn des Kulturvakuums, es muß nun natürlich, wenn der Druck unverändert geblieben ist, auch der Quecksilberstand des Manometers unverändert bleiben.

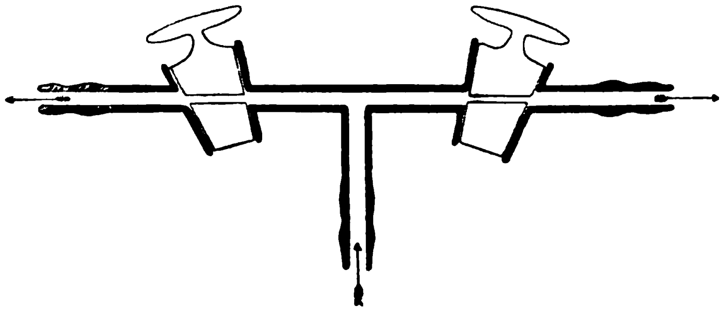


Fig. 6.

Berechnung des Sauerstoffgehaltes.

Zur Berechnung wurden folgende Zahlen und Zeichen verwandt (s. auch Arth. Meyer, 1905).

20.9 = Gehalt der atmosphärischen Luft an Sauerstoff in Volumprozenten.

1,429 = Gewicht von 1 l Sauerstoff bei 0° C und 760 mm Quecksilberdruck in Grammen für die geographische Breite 45°.

—273° = absoluter Nullpunkt.

t = Temperatur des Gasgemisches im Kulturvakuum zur Zeit der Ablesung des Druckes p.

p = Druck des im Kulturvakuum befindlichen Gasgemisches in Millimetern Quecksilber.

e = Tension des gesättigten Wasserdampfes bei der Temperatur t, ausgedrückt in Quecksilberhöhe bei 0° in 45° geogr. Breite und Meeresniveau[1]).

k = Tension des Wasserdampfes aus Lösungen von Kalihydrat[1]).

g = Gehalt des im Kulturvakuum befindlichen Gasgemisches an Sauerstoff, ausgedrückt in Milligrammen auf 1 l Gasgemisch.

1. Bei Anwendung des sogenannten Kulturmanometers (Fig. 4).

Soll, was im übrigen selten vorkommt, aus dem abgelesenen Manometerstand der Gehalt des im Kulturvakuum befindlichen Gasgemisches an Sauerstoff berechnet werden, so dient hierzu, wenn sich am Boden des Kulturvakuum Wasser befindet, der Kulturraum also mit Wasserdampf gesättigt ist, folgende Formel:

$$\frac{20{,}9}{100} \cdot \frac{273+0}{273+t} \cdot \frac{p-e\ (\text{bei } t^0)}{760} \cdot 1{,}429$$

Befindet sich am Boden des Kulturraumes, wie sich das für einige Versuche als nötig herausstellt, an Stelle des Wassers Kalilauge, so setzt man für e den Wert für k ein.

Meist soll berechnet werden, wieviel der Manometerstand p betragen muß, wenn der Kulturraum in 1 l Gasgemisch n mg Sauerstoff enthalten soll. Zu dieser Berechnung dient die Formel (Arth. Meyer 1905):

$$p = e\ (\text{bezw. } k)\ \text{bei } t^0 + \frac{(g \,.\, 100 \,.\, 760) \,.\, 273 + t}{1{,}429 \,.\, 20{,}9 \,.\, 273}$$

Ich habe zur Vereinfachung der Berechnung die folgenden beiden Tabellen für die bei Verwendung des „Kulturmanometers" in Frage kommenden Sauerstoffkonzentrationen bis 25 mg aufgestellt.

Die erste Tabelle (Tabelle III) gibt an, bis zu welchem Quecksilberstand (p) auszupumpen ist, wenn in dem absolut trockenen Kulturraume bei den Temperaturen von 15—36° C (t) ein Sauerstoffgehalt von 0,1—25 mg (g) im Liter herrschen soll, sie umfaßt also nur den zweiten Teil obiger Formel:

$$p = \frac{(g \,.\, 100 \,.\, 760) \,.\, 273 + t}{1{,}429 \,.\, 20{,}9 \,.\, 273}$$

---

[1]) Die betreffenden Tensionen sind in den Tabellen I und II abgedruckt.

Zu den Zahlen (p) dieser Tabelle sind noch die jeweiligen Tensionen des Wasserdampfes e (Tabelle I) oder des Wasserdampfes aus Lösungen (z. B. k, Tabelle II) hinzuzurechnen, um den richtigen Quecksilberstand (p), bis zu dem ausgepumpt werden muß, zu erhalten. Meist handelt es sich ja um gesättigten Wasserdampf, dessen Tensionen e bei den verschiedenen Temperaturen in Tabelle I abgedruckt sind. Bisweilen ist es nötig, an Stelle des Wassers Kalilauge anzuwenden; in Tabelle II sind daher auch die Tensionen des „Wasserdampfes aus Kalilauge" (k) mitgeteilt. Handelt es sich vielleicht um andere Salzlösungen, so muß man deren Tensionen nachsehen 1) und dann diese betreffenden Zahlen zu den in der Tabelle III angegebenen addieren.

Tabelle I. Tension des Wassers (Spannkraft des Wasserdampfes über Wasser).
Aus Landolt-Börnstein, Physik.-chem. Tabellen. 3. Aufl. 1905. p. 119.

Temperatur	mm	Temperatur	mm
15 ° C	12,728	26 ° C	24,987
16	13,565	27	26,505
17	14,450	28	28,103
18	15,383	29	29,785
19	16,367	30	31,555
20	17,406	31	33,416
21	18,503	32	35,372
22	19,661	33	37,427
23	20,883	34	39,586
24	22,178	35	41,853
25	23,546	36	44,230

Tabelle II.
Tensionen des Wasserdampfes aus Lösungen von KOH.
(Nach Versuchen von Wüllner, Poggendorffs Annal. Bd. CX. 1860. p. 564, berechnet durch Errera, Gaz. chim. Vol. XVIII. 1880. p. 227.) Aus Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen. 2. Aufl. 1894. p. 68.

Temperatur Grad C	10 KOH + 100 H^2O 9,09 Proz. KOH mm	20 KOH + 100 H^2O 16,66 Proz. KOH mm	30 KOH + 100 H^2O 23,08 Proz. KOH mm	Temperatur Grad C	10 KOH + 100 H^2O 9,09 Proz. KOH mm	20 KOH + 100 H^2O 16,66 Proz. KOH mm	30 KOH +100 H_2O 23,08 Proz. KOH mm
10,00	8,62	8,01	7,31	22,50	19,09	16,25	14,47
10,50	8,91	8,28	7,56	23,00	19,68	16,75	14,92
11,00	9,21	8,56	7,82	23,65	20,47	17,43	15,52
11,70	9,64	8,97	8,19	24,00	20,92	17,80	15,86
12,10	9,90	9,21	8,41	24,50	21,54	18,35	16,35
12,50	10,16	9,46	8,63	25,00	22,19	18,91	16,85
13,00	10,50	9,77	8,92	25,50	22,90	19,52	17,40
13,50	10,85	10,09	9,22	26,00	23,55	20,07	17,89
13,95	11,17	10,39	9,49	26,50	24,26	20,68	18,43
14,50	11,57	10,77	9,83	26,98	24,95	21,27	18,96
15,15	12,06	11,22	10,25	27,50	25,73	21,94	19,57
15,30	12,18	11,33	10,35	27,93	26,38	22,51	20,07
16,00	12,74	11,85	10,82	28,60	27,44	23,41	20,89
16,35	13,03	12,12	11,07	29,00	28,08	23,96	21,38
17,00	13,57	12,63	11,54	29,50	28,91	24,67	22,02
17,50	14,01	13,04	11,91	30,00	29,76	25,40	22,67
18,00	14,46	13,45	12,29	30,65	30,89	26,37	23,54
18,50	14,92	13,88	12,69	31,00	31,51	26,91	24,03
19,00	15,39	14,33	13,09	31,50	32,42	27,70	24,73
19,40	15,78	14,68	13,41	32,13	33,61	28,72	25,65
20,00	16,38	15,25	13,93	32,50	34,32	29,33	26,21
20,25	16,63	15,48	14,15	33,00	35,30	30,18	26,95
21,00	17,42	16,22	14,82	33,50	36,31	31,05	27,76
21,50	17,96	16,72	15,29	34,00	37,34	31,94	28,56
21,82	18,32	17,06	15,59	34,50	38,40	32,86	29,38

---

1) Finden sich meist in Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen. Berlin, Jul. Springer.

Tabelle III gibt an, bis zu welchem Quecksilberstand (p) zu evakuieren ist, wenn in
Sauerstoffgehalt von 0,1—25 mg

t ° C	g = 0,1 mg p = mm	g = 0,2 mg p = mm	g = 0,3 mg p = mm	g = 0,4 mg p = mm	g = 0,5 mg p = mm	g = 0,6 mg p = mm	g = 0,7 mg p = mm	g = 0,8 mg p = mm	g = 0,9 mg p = mm	g = 1,0 mg p = mm	g = 2,0 mg p = mm
15	0,268	0,537	0,805	1,074	1,342	1,611	1,879	2,148	2,416	2,684	5,369
16	0,269	0,539	0,808	1,078	1,347	1,616	1,886	2,156	2,424	2,694	5,388
17	0,270	0,541	0,811	1,081	1,352	1,622	1,892	2,163	2,433	2,703	5,406
18	0,271	0,543	0,814	1,085	1,356	1,627	1,899	2,170	2,441	2,712	5,425
19	0,272	0,544	0,817	1,089	1,361	1,633	1,905	2,178	2,450	2,721	5,443
20	0,273	0,546	0,819	1,093	1,366	1,539	1,912	2,186	2,458	2,731	5,464
21	0,274	0,548	0,822	1,096	1,370	1,644	1,918	2,193	2,466	2,741	5,482
22	0,275	0,550	0,825	1,100	1,375	1,650	1,925	2,200	2,475	2,750	5,500
23	0,276	0,552	0,828	1,104	1,380	1,655	1,931	2,208	2,483	2,759	5,518
24	0,277	0,554	0,831	1,107	1,384	1,661	1,938	2,215	2,492	2,768	5,537
25	0,278	0,556	0,833	1,111	1,389	1,667	1,944	2,222	2,500	2,777	5,555
26	0,279	0,557	0,836	1,115	1,394	1,672	1,951	2,230	2,508	2,788	5,573
27	0,280	0,559	0,839	1,118	1,398	1,678	1,957	2,237	2,516	2,797	5,693
28	0,281	0,561	0,842	1,122	1,403	1,683	1,964	2,244	2,525	2,806	5,611
29	0.282	0,563	0,845	1,126	1,408	1,689	1,971	2,252	2,533	2,815	5,630
30	0,282	0,565	0,847	1,130	1,412	1,695	1,977	5,260	2,542	2,824	5,649
31	0,283	0,567	0,850	1,134	1,417	1,700	1,984	2,268	2,550	2,834	5,667
32	0,284	0,569	0,853	1,137	1,421	1,706	1,990	2,275	2,559	2,843	5,686
33	0,285	0,571	0,856	1,141	1,426	1,711	1,997	2,282	2,567	2.852	5,705
34	0,286	0,572	0,858	1,144	1,431	1,717	2,003	2,289	2,575	2,862	5,723
35	0,287	0,574	0,861	1,148	1,435	1,723	2,010	2,296	2,584	2,871	5,742
36	0,288	0,576	0,864	1,152	1,440	1,728	2,016	2,304	2,592	2,880	5,761

Tabelle IV gibt an, bis zu welchem Quecksilberstand (p) zu evakuieren ist, wenn in
Sauerstoffgehalt von 0,1 bis

t ° C	0,1 mg p = mm	0,2 mg p = mm	0,3 mg p = mm	0,4 mg p = mm	0,5 mg p = mm	0,6 mg p = mm	0,7 mg p = mm	0,8 mg p = mm	0,9 mg p = mm	1,0 mg p = mm	2,0 mg p = mm
15	13,0	13,3	13,5	13,8	14,1	14,3	14,6	14,9	15,1	15,4	18,1
15,5	13,4	13,7	14,0	14,2	14,5	14,8	15,1	15,3	15,6	15,9	18,6
16	13,8	14,1	14,4	14,6	14,9	15,2	15,5	15,7	16,0	16,3	19,0
16,5	14.3	14,6	14,9	15,1	15,4	15,7	15,9	16,2	16,5	16,8	19,5
17	14,7	15,0	15,3	15,5	15,8	16,1	16,3	16,6	16,9	17,2	19,9
17,5	15,2	15,4	15,8	16,0	16,3	16,6	16,8	17,1	17,4	17,7	20,3
18	15,7	15,9	16,2	16,5	16,7	17,0	17,3	17,6	17,8	18,1	20,8
18,5	16,2	16,4	16,7	17,0	17,2	17,5	17,8	18,1	18,3	18,6	21,3
19	16,6	16,9	17,2	17,5	17,7	18,0	18,3	18,5	18,8	19,1	21,8
19,5	17,1	17,4	17,7	18,0	18,2	18,5	18,8	19,0	19,3	19,6	22,3
20	17.7	17,9	18,2	18,5	18,8	19,1	19,3	19,6	19,9	20,1	22,9
20,5	18,2	18,5	18,7	19,0	19,3	19,6	19,8	20,1	20,4	20,6	23,4
21	18,8	19,1	19,3	19,6	19,9	20,1	20,4	20,7	21,0	21,2	24,0
21,5	19,3	19,6	19,6	20,2	20,4	20,7	21,0	21,3	21,6	21,8	24,6
22	19,9	20,2	20,5	20,8	21,0	21,3	21,6	21,9	22,1	22,4	25,2
22,5	20,5	20,7	21,1	21,4	21,6	21,9	22,2	22,5	22,7	23,0	25,8
23	21,1	21,4	21,7	22,0	22,3	22,5	22,9	23,1	23,4	23,6	26,4
23,5	21,8	22,0	22,3	22,6	23,0	23,2	23,5	23,7	24,0	24,3	27,0
24	22,5	22,7	23,0	23,3	23,6	23,9	24,1	24,4	24,7	25,0	27,7
24,5	23,2	23,4	23,7	24,0	24,2	24,5	24,8	25,1	25,4	25,7	28,4
25	23,8	24,1	24,4	24,7	24,9	25,2	25,5	25,8	26,1	26,3	29,1
25,5	24,6	24,8	25,1	25,4	25,7	25,9	26,2	26,5	26,7	27,0	29,8
26	25,3	25,5	25,8	26,1	26,4	26,7	26,9	27,2	27,5	27,8	30,6
26,5	26,0	26,3	26,5	26,8	27,1	27,4	27,7	28,0	28,2	28,5	31,3
27	26,8	27,1	27,3	27,6	27,9	28,2	28,5	28,7	29,0	29,3	32,1
27,5	27,6	27,9	28,1	28,4	28,7	29,0	29,3	29,5	29,8	30,1	32,9
28	28,4	28,7	29,0	29,2	29,5	29,8	30,1	30,3	30,6	30,9	33,7
28,5	29,2	29,5	29,8	30,0	30,3	30,6	30,9	31,1	31,4	31,7	34,5
29	30,1	30,4	30,6	30,9	31,2	31,5	31,8	32,0	32,3	32,6	35,4

dem absolut trockenen Kulturraume bei den Temperaturen von 15—36° (t) ein (g) im Liter herrschen soll.

g = 3,0 mg p= mm	g = 4,0 mg p= mm	g = 5,0 mg p= mm	g = 6,0 mg p= mm	g = 7,0 mg p= mm	g = 8,0 mg p= mm	g = 9,0 mg p= mm	g = 10,0 mg p= mm	g = 15,0 mg p= mm	g = 20,0 mg p= mm	g = 25,0 mg p= mm	t ° C
8,053	10,74	13,42	16,11	18,79	21,48	24,16	26,84	40,27	53,69	67,12	15
8,081	10,78	13,47	16,16	18,86	21,56	24,24	26,94	40,41	53,88	67,35	16
8,109	10,81	13,52	16,22	18,92	21,63	24,33	27,03	40,55	54,06	67,58	17
8,137	10,85	13,56	16,27	18,99	21,70	24,41	27,12	40,69	54,25	67,81	18
8,165	10,89	13,61	16,33	19,05	21,78	24,50	27,21	40,83	54,44	68,04	19
8,193	10,93	13,66	16,39	19,12	21,86	24,58	27,31	40,97	54,63	68,27	20
8,221	10,96	13,70	16,44	19,18	21,93	24,66	27,41	41,11	54,82	68,51	21
8,249	11,00	13,75	16,50	19,25	22,00	24,75	27,50	41,25	55,00	68,74	22
8,277	11,04	13,80	16,55	19,31	22,08	24,83	27,59	41,39	55,18	68,98	23
8,305	11,07	13,84	16,61	19,38	22,15	24,92	27,68	41,53	55,37	69,21	24
8,333	11,11	13,89	16,67	19,44	22,22	25,00	27,77	41,67	55,55	69,44	25
8,361	11,15	13,94	16,72	19,51	22,30	25,08	27,87	41,81	55,73	69,67	26
8,389	11,18	13,98	16,78	19,57	22,37	25,16	27,96	41,95	55,93	69,91	27
8,417	11,22	14,03	16,83	19,64	22,44	25,25	28,06	42,08	56,11	70,14	28
8,445	11,26	14,08	16,89	19,71	22,52	25,33	28,15	42,22	56,30	70,38	29
8,473	11,30	14,12	16,95	19,77	22,60	25,42	28,24	42,36	56,49	70,61	30
8,501	11,34	14,17	17,00	19,84	22,68	25,50	28,34	42,50	56,67	70,85	31
8,528	11,37	14,21	17,06	19,90	22,75	25,59	28,43	42,64	56,86	71,08	32
8,558	11,41	14,26	17,11	19,97	22,82	25,67	28,52	42,78	57,05	71,31	33
8,585	11,44	14,31	17,17	20,03	22,89	25,75	28,62	42,92	57,23	71,54	34
8,613	11,48	14,35	17,23	20,10	22,96	25,84	28,71	43,06	57,42	71,77	35
8,641	11,52	14,40	17,28	20,16	23,04	25,92	28,80	43,20	57,61	72,01	36

dem wasserdampfgesättigten Kulturraume bei den Temperaturen von t ° ein 25 mg im Liter herrschen soll.

3,0 mg p= mm	4,0 mg p= mm	5,0 mg p= mm	6,0 mg p= mm	7,0 mg p= mm	8,0 mg p= mm	9,0 mg p =mm	10,0 mg p= mm	15,0 mg p= mm	20,0 mg p= mm	25,0 mg p= mm	t ° C
20,8	23,5	26,2	28,8	31,5	34,2	36,9	39,6	53,0	66,5	79,9	15
21,3	24,0	26,6	29,2	32,0	34,7	37,4	40,1	53,5	67,0	80,4	15,5
21,7	24,4	27,0	29,7	32,4	35,1	37,8	40,5	54,0	67,5	80,9	16
22,2	24,9	27,5	30,2	32,9	35,6	38,3	41,0	54,5	68,0	81,4	16,5
22,6	25,3	28,0	30,7	33,4	36,1	38,8	41,5	55,0	68,5	82,0	17
23,1	25,8	28,4	31,2	33,9	36,6	39,3	42,0	55,5	69,0	82,6	17,5
23,5	26,2	28,9	31,7	34,4	37,1	39,8	42,5	56,1	69,6	83,2	18
24,0	26,7	29,4	32,2	34,9	37,6	40,3	43,0	56,6	70,2	83,8	18,5
24,5	27,3	30,0	32,7	35,4	38,2	40,9	43,6	57,2	70,8	84,4	19
25,0	27,8	30,5	33,2	35,9	38,7	41,4	44,1	57,8	71,4	85,1	19,5
25,6	28,3	31,1	33,8	36,5	39,2	42,0	44,7	58,4	72,0	85,7	20
26,1	28,9	31,6	34,3	37,1	39,8	42,6	45,3	59,0	72,6	86,3	20,5
26,7	29,5	32,2	34,9	37,7	40,4	43,2	45,9	59,6	73,3	87,0	21
27,3	30,1	32,8	35,5	38,3	41,0	43,8	46,5	60,2	74,0	87,7	21,5
27,9	30,7	33,4	36,2	38,9	41,7	44,4	47,2	60,9	74,7	88,4	22
28,5	31,3	34,0	36,8	39,5	42,3	45,0	47,8	61,6	75,4	89,1	22,5
29,2	31,9	34,7	37,4	40,2	43,0	45,7	48,5	62,3	76,1	89,9	23
29,8	32,6	35,4	38,1	40,9	43,7	46,4	49,2	63,0	76,8	90,6	23,5
30,5	33,3	36,0	38,8	41,6	44,3	47,1	49,9	63,7	77,6	91,4	24
31,2	34,0	36,7	39,5	42,3	45,0	47,8	50,7	64,4	78,4	92,2	24,5
31,9	34,7	37,4	40,2	43,0	45,8	48,6	51,3	65,2	79,1	92,9	25
32,6	35,5	38,2	41,0	43,8	46,6	49,4	52,1	65,9	79,9	93,8	25,5
33,5	36,1	38,9	41,7	44,5	47,3	50,1	52,9	66,8	80,7	94,7	26
34,2	36,9	39,7	42,5	45,3	48,1	50,9	53,7	67,6	81,5	95,5	26,5
34,9	37,7	40,5	43,3	46,1	48,9	51,7	54,5	68,5	82,4	96,4	27
35,7	38,5	41,3	44,1	46,9	49,7	52,5	55,3	69,3	83,3	97,3	27,5
36,5	39,3	42,1	44,9	47,7	50,5	53,4	56,2	70,2	84,2	98,2	28
37,3	40,2	43,0	45,8	48,6	51,4	54,3	57,1	71,1	85,1	99,2	28,5
38,2	41,1	43,9	46,7	49,5	52,3	55,1	57,9	72,0	86,1	100,2	29

Ein Beispiel möge die Benutzung der Tabelle III erläutern: Angenommen, wir wollten Bac. amylobacter bei einem Gehalte von 2 mg Sauerstoff im Liter kultivieren und die bei der Atmung gebildete störende CO^2 durch 23-proz. Kalilauge absorbieren. Zu diesem Zwecke bringen wir auf den Boden des Kulturvakuums anstatt Wasser in einem flachen Gefäße 23-proz. Kalilauge (30 KOH + 100 H^2O) und berechnen den Quecksilberstand, bis zu dem ausgepumpt werden muß, um den gewünschten Gehalt (g) von 2 mg O im Liter zu erhalten, in folgender Weise: Die Temperatur im Kulturraum sei 21°. Wir entnehmen aus der Tabelle III den Wert für p bei 21° und 2 mg = 5,482 mm und aus der Tabelle II die Tension (k) des „Wasserdampfes aus 23-proz. Lösung von KOH“ bei 21° = 14,82 mm, welche Zahl zu p zu addieren ist, also 5,482 + 14,82 = 20,3 mm. Wir hätten demnach, um bei Anwendung von 23-proz. Kalilauge bei 21° einen Gehalt von 2 mg O im Liter zu erzeugen, so weit auszupumpen, bis der Quecksilberstand des Manometers bei 21° = 20,3 mm beträgt.

In entsprechender Weise verfährt man, wenn es sich um andersprozentige Kalilauge, deren Tension ebenfalls in Tabelle II mitgeteilt ist, oder um irgendwelche Salzlösungen, oder auch um Wasser handelt. Da letzteres zumeist benutzt wird, habe ich, um ein andauerndes Umrechnen zu vermeiden, die Tabelle IV aufgestellt, welche auch unseren Versuchen zugrunde gelegt wurde. Aus derselben ist direkt zu entnehmen, bis auf welchen Quecksilberstand (p) ausgepumpt werden muß, um im wasserdampfgesättigten Raume bei t° eine Konzentration von 0,1—25 mg Sauerstoff im Liter zu erhalten.

Die angegebenen Zahlen sind also umgerechnet nach der Formel:

$$p = e\ (\text{bei } t^0) + \frac{(g\,.\,100\,.\,760)\,.\,273 + t}{1{,}429\,.\,20{,}9\,.\,273}$$

2. Berechnung des O-Gehaltes bei Anwendung des sogen. „Quecksilbermanometers“

(siehe Fig. 5).

Hier muß man natürlich, da auf dem offenen Schenkel des Manometers der ganze Luftdruck lastet, den Barometerstand mit berücksichtigen.

Die Berechnung findet in folgender Weise statt (s. a. Arth. Meyer, 1906):

1) Wir stellen zuerst den Barometerstand b fest, indem wir von der am langen Schenkel in Millimetern abgelesenen Zahl l die am kurzen Schenkel abgelesene k subtrahieren, $l - k = b$.

2) Dann bestimmen wir die Höhe der Quecksilbersäule des Manometers in derselben Weise, $l' - k' = m$.

3) Wird die Temperatur der Quecksilbersäule und der verdünnten Luft im Kulturvakuum bestimmt (beide nach längerem Stehen des Apparates im Arbeitsraume).

Aus diesen Zahlen finden wir die Länge der Quecksilbersäule p^t, welche den Unterdruck der verdünnten Luft mißt, indem wir m von b subtrahieren, also

$$p^t = b - m.$$

Die Länge p^t muß auf die Länge, welche die Quecksilbersäule bei 0° besitzt (p^0), reduziert werden, dies geschieht nach der Formel:

$$p^0 = p^t\,.\,(1—0{,}000181\,.\,t).$$

Nachdem so die auf 0° reduzierte Höhe der Quecksilbersäule (p^0) festgelegt ist, berechnet man nach folgender Formel den Gehalt eines im Kulturvakuum befindlichen Liters Gasgemisch an Milligramm Sauerstoff (g) nach der Formel:

$$g = \frac{20{,}9}{100} \cdot \frac{273 + 0}{273 + t} \cdot \frac{p^0 - e}{760} \cdot 1{,}4292 \cdot 1000$$

in der e wieder die Tension des Wasserdampfes bei t° (s. Tabelle I) bedeutet. Bei Verwendung von Kalilauge hätte man die entsprechenden Werte für k (s. Tabelle II) anstatt e einzusetzen.

Unter Berücksichtigung dieser Formeln habe ich die folgende Tabelle V berechnet, welche meinen Versuchen zugrunde gelegt wurde.

Dieselbe ist, den praktischen Bedürfnissen angepaßt, etwas anders eingerichtet, wie Tabelle IV. Es ist aus derselben direkt zu entnehmen, wieviel Milligramm Sauerstoff in 1 l des im Kulturraum befindlichen wasserdampfgesättigten Gasgemisches bei einem Manometerstand von 95—665 mm und den verschiedenen Barometerständen und Temperaturen enthalten sind.

Tabelle V.

Manometerstand	Barometerstand mm	15° mg O	16° mg O	17° mg O	18° mg O	19° mg O	20° mg O	21° mg O	22° mg O	23° mg O	24° mg O	25° mg O	26° mg O	27° mg O	28° mg O	29° mg O	30° mg O
95 mm (= $^7/_8$ Atmosph.)	760	239	237	236	235	233	232	230	228	227	225	223	222	220	218	216	214
	750	242	241	239	238	236	235	233	231	230	229	227	225	223	221	219	218
	740	245	244	242	241	240	238	236	235	233	231	230	228	226	224	222	220
190 mm (= $^3/_4$ Atmosph.)	760	205	203	202	201	200	199	197	196	194	193	191	190	188	186	185	184
	750	208	206	205	204	202	201	200	198	197	196	194	193	191	189	188	187
	740	210	209	208	206	205	204	203	201	200	198	197	195	194	192	191	189
285 mm (= $^5/_8$ Atmosph.)	760	171	170	169	168	167	165	164	163	162	161	160	158	157	156	155	153
	750	173	172	171	170	169	168	167	165	164	163	162	161	159	158	157	155
	740	175	174	173	172	171	170	169	168	167	165	164	163	162	160	159	157
380 mm (= $^1/_2$ Atmosph.)	760	137	136	135	134	133	132	131	131	130	129	128	127	126	125	124	123
	750	138	137	137	136	135	134	133	132	131	131	129	128	127	126	125	124
	740	140	139	138	138	137	136	135	134	133	132	131	130	129	128	127	126
475 mm (= $^3/_8$ Atmosph.)	760	102	102	101	101	100	99	99	98	97	97	96	95	94	94	93	92
	750	104	103	103	102	101	101	100	99	99	98	97	96	96	95	94	93
	740	105	105	104	103	103	102	101	101	100	99	98	98	97	96	95	94
570 mm (= $^1/_4$ Atmosph.)	760	68	68	67	67	66	66	65	65	64	64	63	63	62	62	62	61
	750	69	69	68	68	67	67	67	66	66	65	65	64	64	63	63	62
	740	70	70	69	69	68	68	68	67	67	66	66	65	65	64	64	63
665 mm (= $^1/_8$ Atmosph.)	760	34	34	34	34	33	33	33	33	32	32	32	32	31	31	31	31
	750	35	34	34	34	34	34	33	33	33	33	33	32	32	32	31	31
	740	35	35	35	34	34	34	34	34	33	33	33	33	32	32	32	31

In einer kürzlich erschienenen Arbeit bezeichnet es Kürsteiner (1907) bei einer Kritik der Wundschen Versuche, welcher mit denselben beschriebenen Apparaten die Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender sporenbildender Bakterienspecies feststellte (1906), als „sehr schwierig, wenn nicht unmöglich, einer Bakterienart in dem ihr zur Verfügung gestellten Nährboden eine beliebige bestimmte Menge ungebundenen Sauerstoffs zu bieten“. „Denn wie in einem absoluten Vakuum im Raum über einem beliebigen Bakteriennährboden nicht auch absolute Sauerstoffabwesenheit des letzteren zu entsprechen braucht, so wird auch einem bestimmten, am Vakuummeter ermittelten Sauerstoffdruck des Kulturraumes nicht derselbe Druck im Nährboden entsprechen. Es wird sich je nach den Verhältnissen nach verschieden langer Zeit ein Gleichgewichtszustand einstellen, der aber von verschiedenen schwer kontrollierbaren Einflüssen, nicht zum mindesten von der sauerstoffabsorbierenden Tätigkeit der auf dem Nährboden befindlichen lebenden Kultur selbst abhängt. Diese Tatsachen und Ueberlegungen scheinen uns in der jüngst erschienenen Arbeit von Martin Wund nicht genügend berücksichtigt worden zu sein.“ Bei den von Wund in verdünnter Luft ausgeführten Untersuchungen, welche ein positives Resultat gaben, also allein in Frage kommen, handelte es sich um Sauerstoffkonzentrationen zwischen 3,0 und 200 mg im Liter, d. h. um Verdünnungen von ungefähr $^1/_{100}$ bis $^3/_8$; im ganzen, ca. 1200 ccm Luft fassenden Kulturvakuum waren demnach noch enthalten 12—800 ccm Luft. Wir meinen, daß die Fehler, die durch einen von dem im Vacuum vorhandenen verschiedenen Sauerstoffgehalt des Nährbodens veranlaßt sind, bei den stärkeren Tensionen ohne weiteres ignoriert werden können und auch bei den schwächeren Tensionen nicht wesentlich ins Gewicht fielen, jedenfalls sind sie nicht größer als die Fehler, welche durch das Ablesen am Manometer verursacht worden sind. Dazu kommt, daß die Keimung der Sporen bei den niedrigen Tensionen frühestens erst nach 10 bis 14 Tagen eintrat, nach welcher Zeit ein Ausgleich der im Nährboden und im Kulturraum herrschenden Verhältnisse stattgefunden hat, sodaß der Sauerstoffgehalt des Nährbodens immer geringer war als der der Luft im Kulturraume. Daß Wund inzwischen den Kulturraum einige Male öffnen mußte ändert daran nichts, begünstigt höchstens den Ausgleich, indem beim erneuten Auspumpen wieder die gewünschte Sauerstoffspannung, die eventuell von aus dem Nährboden abgegebenen Sauerstoff größer geworden sein kann, wieder hergestellt wurde. Daß der feste Nährboden bei der kurzen Berührung mit der Luft etwa wieder Sauerstoff aufgenommen habe, ist auch kaum anzunehmen, da der Sauerstoff nur langsam in den festen Nährboden eindringt1). Größer ist schon die Wahrscheinlichkeit, daß sich bei der Bestimmung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenbildung ein Fehler einschleichen kann, indem nämlich lebhaft wachsende Kulturen die Sauerstoffkonzentrationen bald verändert haben werden. Auch hier läßt sich der Fehler vermeiden, wenn man zu den Kulturen erneut Luft zutreten läßt und sofort wieder auf den gewünschten Druck einstellt, wie geschehen.

Darüber, ob eine schnell erfolgende Druckänderung, wie Kürsteiner meint, und auch Jentys (1888) bei Phycomyces beobachtet haben will, auf die Kultur einen eventuell schädigenden Einfluß ausüben kann, habe ich mit Bac. asterosporus Versuche angestellt; es hat sich dabei herausgestellt (1908), was Prof. Meyer auch bereits vermutete und in der Wundschen Arbeit aussprach, daß ein Druckwechsel keinen schädigenden Einfluß ausübte, sondern daß durch denselben die Minima der Sauerstoffkonzentrationen etwas nach oben verschoben werden, da die Sporen und die Oidien die bessere Sauerstoffkonzentration von Zeit zu Zeit genießen konnten.

Alle diese Umstände sind selbstverständlich bei Anstellung der Wundschen Versuche berücksichtigt worden. Wir sind der Meinung, daß die durch die Methodik verursachten Versuchsfehler sehr wohl in der für biologische Versuche zulässigen Grenze liegen, und daß es bislang keine exakteren und bequemeren Methoden zur direkten Messung der Sauerstoffkonzentrationen gibt.

Es muß jedoch noch besonders bemerkt werden, daß die beschriebenen Arten der Messung niemals dazu gedient haben, die etwaige völlige Sauerstofffreiheit durch Messung festzustellen, das ist selbstverständlich wegen der doch immerhin relativ groben Ablesung am Manometer und ferner wegen des erwähnten Sauerstoffgehaltes der Nährböden nicht angängig.

---

1) S. a. Beijerinck (1889, p. 424); „La vitesse de diffusion de l'oxygène dans la gélatine est faible, environ 1 cm en 24 heures et beaucoup plus petit que celle de l'acid chlorhydrique, de l'acid lactique etc. Des nombreuses matières que j'ai essayées, c'est l'ammoniaque qui se diffuse le plus rapidement . . . .“

Für wirklich feine vergleichende Messungen wurde in anderer Weise verfahren. Zunächst wurden für diese die Nährböden besonders vorbereitet. Als Nährboden diente entweder D-Agar oder Fleischextrakt-Pepton-Zucker-Lösung (s. u.). Die Agarröhrchen wurden in gewohnter Weise beschickt, dann im siedenden Wasserbade mindestens $^1/_2$ Stunde ausgekocht und sogleich ungefähr 15 Minuten lang auf Eis gelegt, worauf sie sofort in Kulturvakua gebracht wurden, zusammen mit einigen kräftigen jungen Bac. asterosporus-Kulturen auf Schrägagar und mit einer oder mehreren kräftig leuchtenden Kulturen von Bact. phosphoreum Cohn-Molisch in Nährlösung und auf Gelatine (die Verschlußwatte dieser Kulturen vorher entfernt). Die Kulturvakua wurden sofort soweit wie möglich ausgepumpt und blieben dann ruhig bis zur Verwendung der Röhrchen, meist mehrere Wochen, stehen, zunächst bis zum Aufhören des Leuchtens der Leuchtbakterien bei einer Temperatur von ca. 10°, später bei Zimmertemperatur. Das Leuchten hörte im allgemeinen bei 10° nach 24—36 Stunden auf, so daß man dann also auf einen absolut sauerstofffreien Kulturraum schließen durfte, in welchem nach wochenlangem Stehen auch ein Ausgleich der im Nährboden herrschenden Verhältnisse erreicht worden sein wird. Zum Zwecke der mit größter Sorgfalt erfolgenden Impfung dieser „sauerstofffreien" Röhrchen mußte der Exsikkator natürlich geöffnet werden, aber es ist bekannt, daß der Sauerstoff nur langsam in feste Nährböden eindringt (s. oben). Teils wurden auch flüssige Nährböden verwendet, weil in ihnen der Ausgleich naturgemäß noch schneller stattfindet. Die Nährlösung bestand aus Liebigs Fleischextrakt, Pepton Witte, Rohrzucker je 0,5, Wasser 100. Die Röhrchen wurden höchstens 1 cm hoch mit derselben beschickt und nachdem — zur Neutralisation der in Nährlösung durch Bac. amylobacter reichlich gebildeten Säure — ein kleines Stückchen Marmor zugesetzt war, im Autoklaven bei 2 Atm. Ueberdruck sterilisiert. Nachdem sie im Autoklaven fast erkaltet waren, wurden sie, wie die Agarröhrchen, zusammen mit einigen Leuchtbakterien und Bac. asterosporus-Kulturen ins Kultur-

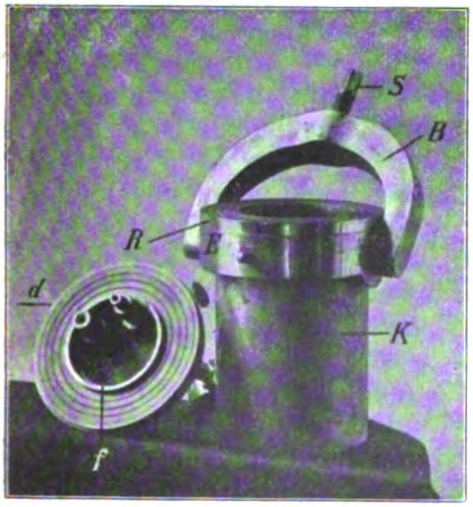


Fig. 7.

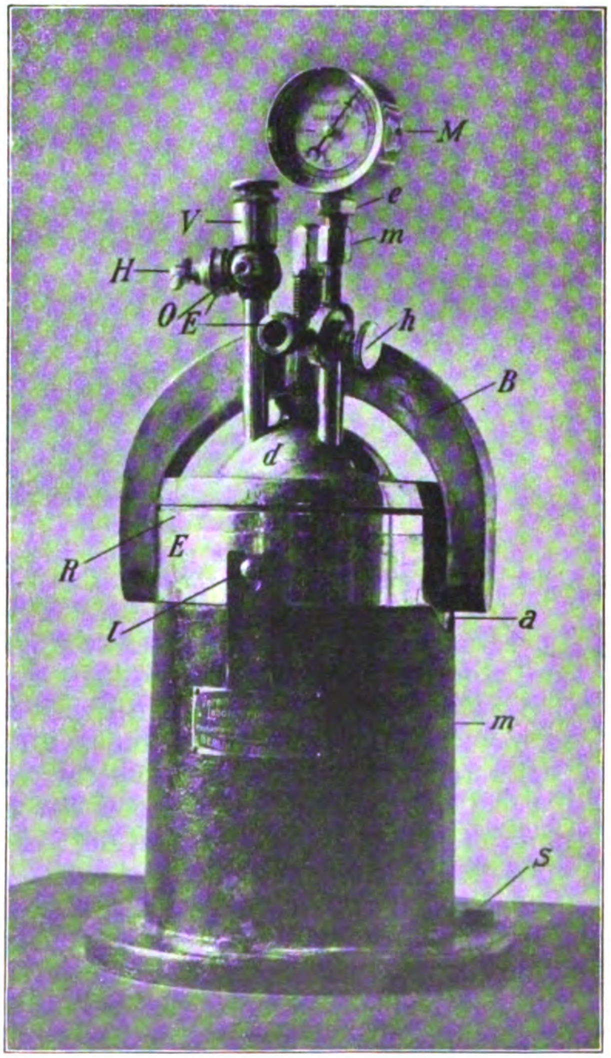


Fig. 8.

Fig. 7. Druckraum mit seinem neben dem Kulturgefäß liegenden Deckel.
Fig. 8. Im Mantel stehender geschlossener Druckraum.
KRS (Fig. 7) Kulturgefäß, *d* Deckel, *m* (Fig. 8) Mantel, *B* Stahlbügel des Kulturgefäßes, *S* (Fig. 7) Schraube zum Festdrücken des Deckels, *V* (Fig. 8) Sicherheitsventil, *O* Ausströmöffnung, *E'* Einlaßöffnung, *h* Einlaßhahn, *M* Manometer.

vakuum gebracht und dieses ausgepumpt. Wenn die Evakuierung ziemlich weit vorgeschritten ist, geraten die Nährlösungen ins Sieden, man setzt dann das Pumpen vorsichtiger fort, damit die siedenden Nährlösungen nicht zu stark ins Schäumen kommen und dadurch nicht die Wattebäusche befeuchten, und spült so die letzten Sauerstoffspuren mit dem Wasserdampf heraus. Die letzten eventuell noch zurückbleibenden Spuren werden dann durch die atmenden Bakterienkulturen absorbiert. Durch das Sieden verdampft die Nährlösung zum Teil und nimmt annähernd die Konzentration der „Nährlösung I" (Arth. Meyer, „Praktikum", 1903) an. Natürlich ist darauf acht zu geben, daß beim Impfen dieses flüssigen Nährbodens derselbe nicht unnötig lange an der Luft bleibt, und daß er vor allem beim Impfen möglichst wenig geschüttelt wird. Selbst wenn jedoch beim Impfen etwas mehr Sauerstoff absorbiert werden sollte, als durch die festen Nährböden, gleichen sich dafür im Vakuum die Verhältnisse auch um so leichter wieder aus (s. a. Kap. III, Bestimmung des Minimums der Sauerstoffkonzentration für die Sporenkeimung des **Bac. amylobacter** p. 458).

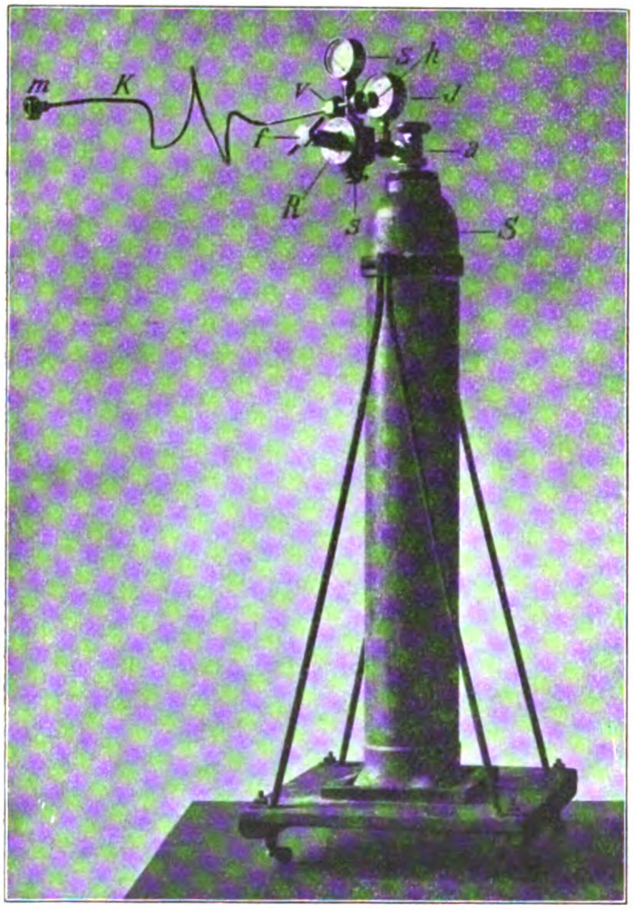


Fig. 9. Preßgasapparat mit Verbindungsrohr. *S* Stahlflasche, *R* Reduzierventil, *J* und *S* Manometer, *s* Sicherheitsventil, *h* Absperrhahn, *f* Einstellschraube.

Die Kultivierung unter erhöhter Sauerstoffspannung und die Bestimmung der Tötungszeit der Sporen bei hohen Sauerstoffkonzentrationen geschah mit Hilfe der von Prof. **Arth. Meyer** konstruierten „Apparatur für die Kultivierung der Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen", welche im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 386/98 eingehend beschrieben ist. In den Fig. 7, 8 und 9 sind diese Apparate, welche der Hauptsache nach aus einem in Art eines Autoklaven gebauten Druckraum zur Aufnahme der Kulturen und dem Preßgasapparate bestehen, nochmals abgebildet.

Die Berechnung der Sauerstoffkonzentrationen bei Benutzung von komprimierter Luft geschah nach der in der angeführten Arbeit p. 395 veröffentlichten Tabelle, aus der man die im Druckraum herrschende Sauerstoffkonzentration für die Drucke zwischen 2 und 10 kg und die Temperaturen zwischen 17 und 28° direkt in Milligramm auf 1 l berechnet ablesen kann.

Bei Benutzung von komprimiertem Sauerstoff geschah die Berechnung nach der dort gleichfalls mitgeteilten Formel.

Kapitel III.

Auf spezielle morphologische und physiologische Untersuchungen gegründeter Vergleich der neu isolierten Stämme des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann untereinander und mit den Originalstämmen anderer Autoren.

(Vergl. auch Kap. IV „Stickstoffbindung" und Kap. V. „Chemische Untersuchung der Gärungsprodukte".)

1. Spezielle Morphologie und Reservestoffe.

Die spezielle Morphologie der sämtlichen Stämme gleicht einander vollständig, so daß die Beschreibung des einen auch auf den anderen Stamm paßt. Es muß auch hier, wie schon bei einer früheren Gelegenheit, wieder betont werden, daß bei dem einen oder anderen Stamme bisweilen beobachtete scheinbare Abweichungen in der Form der Morphoden nie für einen Stamm spezifisch sind, sondern daß dieselben auch unter Umständen in mehr oder weniger deutlich ausgeprägtem Maße bei allen zu finden sind, vorausgesetzt, daß man genügend oft und genügend verschiedene Kulturen eines Stammes in verschiedenem Alter und zu verschiedenen Zeiten untersucht.

Die Morphologie des Bac. amylobacter ist schon zu wiederholten Malen von verschiedenen Autoren beschrieben worden (van Tieghem 1877—79, Prażmowski 1880, Winogradsky 1902, Haselhoff und Bredemann 1906 etc.), allerdings meist stets für „neue Species", aber wir wissen jetzt, daß ein großer Teil aller dieser zur Species Bac. amylobacter A. M. et Bred. gehören. Würden wir alle diese Beschreibungen zusammenziehen, so würden wir eine ziemlich erschöpfende morphologische Beschreibung des Bac. amylobacter erhalten¹).

Die hier nun folgenden Angaben stützen sich alle auf eigene Beobachtungen.

a) Form und Größe der Sporen.

Die weitaus am häufigsten vorkommende Form der Sporen, welche auf D-Agar entstehen, ist die auf Taf. I, Fig. 1—4 und 9—20 abgebildete, also zylindrisch walzenförmig; neben dieser finden sich, wenn auch verhältnismäßig seltener, andere, wie sie auf Taf. I, Fig. 5—8 abgebildet sind, bohnenförmig gekrümmte, eiförmige, rundliche und sogar kugelförmige, letztere besonders häufig in stickstoffreier Nährlösung. Bei einigen scheint die Exine nicht ganz glatt zu sein, sie besitzt vielleicht kleine Zäckchen (Fig. 4). Solche Sporen ähneln, besonders wenn sie nicht, wie es bei Bac. amylobacter meist der Fall zu sein pflegt, von Resten der Sporangienmembran umgeben sind (s. p. 438), den Sporen von Bac. asterosporus auf den ersten Blick auffallend, es ist jedoch nicht möglich, selbst nicht mit den besten Instrumenten, Leisten oder Zacken, wie solche bei Bac. asterosporus leicht zu sehen sind, nachzuweisen. Man glaubt eine Körnigkeit der Exine zu erkennen, doch müßten diese Körner, wenn sie vorhanden sind, so klein sein, daß sie nicht einzeln zu sehen sind.

Exine und Intine unterscheidet man leicht, ungefärbt sowohl, als auch gefärbt. Die Sporen färben sich, wie häufig, mit Anilinfarben nur schwer,

---

1) Vergl. auch die sehr sorgfältige Beschreibung der Morphologie des „beweglichen Buttersäurebacillus" von Grassberger und Schattenfroh (1902).

am besten eignet sich zur Färbung „Jodjodkali schwach" (s. Arthur Meyer, Praktikum der botanischen Bakterienkunde, p. 152).

Was die Größe der Sporen anbelangt, welche auf Dextroseagar bei 28° C und 1 mg Sauerstoff im Liter entstehen, so wird es überraschen, wie gering die Abweichungen sind, welche die verschiedenen Stämme zeigen. Es zeigt dies auch, daß die Bestimmung der Sporengröße ein sehr gutes Speciesdiagnostikum ist, vorausgesetzt, daß man die Messungen nur an solchen Sporen vornimmt, welche auf einem bestimmen Nährsubstrat und unter bestimmten Bedingungen gezüchtet sind. Daß die Zusammensetzung des Nährbodens wie die Temperatur etc. einen großen Einfluß auf die Größe der entstehenden Sporen ausübt, ist ja bekannt, und der Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens wird durch die später mitzuteilenden Ergebnisse auch hier wieder sehr schön zutage treten.

Wie früher an den 27 verschiedenen Stämmen des Bac. asterosporus (1908), so habe ich auch an allen in Händen befindlichen 27 Stämmen des Bac. amylobacter sehr sorgfältig vergleichende Messungen vorgenommen. Dieselben wurden in derselben Weise, wie bei den Asterosporus-Stämmen ausgeführt: je 50 Sporen einer Kultur wurden mittels Zeichenprismas genau gezeichnet in der Weise, daß alle im jeweiligen Gesichtsfelde liegenden Sporen berücksichtigt wurden, so daß also ohne Auswahl alle jeweilig vorkommenden Größen getroffen werden mußten. Das Zeichnen selbst geschah in der Weise, daß die scharf eingestellten Konturen der Sporen genau nachgezogen wurden, so daß also die äußerste Kontur des Bleistiftstriches genau mit der äußersten Kontur der Spore zusammenfiel. Aus diesen 50 Einzelbestimmungen wurden dann ebenso wie bei Bac. asterosporus die Mittelwerte einfach durch Addition der einzelnen Zahlen und Multiplikation der erhaltenen Summe mit 0,02 gewonnen. Daß die so erhaltenen Werte den durch Berechnung nach der statistischen Methode von Davenport (1899) erhaltenen Werte für unsere Zwecke genügend nahekommen, habe ich früher gezeigt (1908, p. 57). Nur die Mittelwerte für Länge und Breite, die sich aus der nach sämtlichen Messungen aller Stämme konstruierten Variationskurve (Fig. 10 p. 429) ergeben, wurden auch unter Anwendung dieser statistischen Methode (Davenport „Statistical methods") berechnet.

In den untenstehenden tabellarischen Zusammenstellungen dieser Einzelmessungen wird die große, in einigen Fällen nur um einige Hundertstel μ voneinander abweichende Uebereinstimmung der Mittelwerte auffallen. Dabei hat man zu berücksichtigen, daß die erhaltenen Zahlen keine absolut genauen sind, da ja kleinere Zeichenfehler und auch Messungsfehler selbstverständlich vorkommen. Die Fehler, die bei genügender Uebung durch das Zeichnen und Messen hervorgerufen werden, sind jedoch nur unerheblich. Um die Größe derselben festzustellen, wurden einige Kontrollmessungen und -zeichnungen vorgenommen: Alle in einem jeweiligen Gesichtsfelde möglichst zerstreut liegenden Sporen wurden wie gewöhnlich gezeichnet, aber jedes Gesichtsfeld zweimal auf 2 getrennten Kartons, so daß man also von denselben Sporen 2 vergleichende Zeichnungen hatte, welche dann in der gewöhnlichen Weise gemessen wurden.

Es ergaben sich hierbei folgende Abweichungen:

Tabelle VI.

Breite der Sporen in μ	Anzahl der Sporen					
	Stamm 84 (Ostindien)		Stamm 119 (Hammerfest)		Stamm E (Bac. amylobacter Gruber)	
	Messung I	Messung II	Messung I	Messung II	Messung I	Messung II
0,8	—	1	5	4	—	—
1,0	23	26	35	37	30	28
1,2	27	23	10	9	18	19
1,4	—	—	—	—	2	3
Mittel	1,108	1,088	1,020	1,020	1,088	1,100
Differenz	± 0,020 μ		± 0,000 μ		± 0,012 μ	
Länge der Sporen in μ						
1,6	8	13	9	10	—	—
1,8	24	19	17	21	7	6
2,0	16	15	22	15	24	24
2,2	2	3	2	3	11	12
2,4	—	—	—	—	5	4
2,6	—	—	—	—	2	3
2,8	—	—	—	—	1	1
Mittel	1,848	1,832	1,868	1,808	2,096	2,108
Differenz	± 0,016 μ		± 0,060 μ		± 0,012 μ	

Man sieht, die durch das Messen und Zeichnen hervorgerufene größte Differenz betrug

für Breite 0,020 μ oder 2,0 Proz. des Mittelwertes
„ Länge 0,060 μ „ 3,0 „ „ „

während die kleinste Differenz

für Breite 0,000 μ oder 0,0 Proz. des Mittelwertes
„ Länge 0,012 μ „ 0,6 „ „ „

betrug 1)

Daß auch Messungen, die an verschiedenen Kulturen ein und desselben Stammes zu verschiedenen Zeiten vorgenommen werden, gut übereinstimmende Werte geben, zeigen folgende willkürlich herausgegriffene Beispiele:

(Siehe Tabelle VII p. 426.)

---

1) Die entsprechenden beim Zeichnen der Sporen des Bac. asterosporus hervorgerufenen Differenzen waren folgende (p. 442):

Größte Differenz für Breite 0,050 μ = 4,0 Proz. des Mittelwertes
„ „ „ Länge 0,056 μ = 2,3 „ „ „
Kleinste Differenz für Breite 0,016 μ = 1,3 Proz. des Mittelwertes
„ „ „ Länge 0,024 μ = 1,1 „ „ „

Tabelle VII.

	Bac. amylobacter Stamm H (Granul. butylic. Beijerinck)		Bac. amylobacter Stamm C (Clostr. α Haselhoff et Bredemann)	
	Anzahl der Sporen		Anzahl der Sporen	
	Messung I	Messung II	Messung I	Messung II
	Kultur vom 14./2. bis 22./2. 07	Kultur vom 15./2. bis 30./3. 08	Kultur vom 4./12. 05 bis 10./1. 06	Kultur vom 11./1. bis 7./2. 07
Breite 0,8 μ	—	1	1	2
„ 1,0 „	18	9	15	22
„ 1,2 „	19	28	23	22
„ 1,4 „	11	12	10	4
„ 1,6 „	2	—	1	—
Mittel	1,19	1,20	1,18	1,11
Länge 1,6 μ	—	—	3	3
„ 1,8 „	6	6	9	11
„ 2,0 „	14	19	26	28
„ 2,2 „	14	15	10	8
„ 2,4 „	13	8	2	—
„ 2,6 „	1	2	—	—
Mittel	2,13	2,12	2,00	1,96

Dieselben gut übereinstimmenden Zahlen erhielt ich bei 2 Messungen, die im Abstande von 2 Jahren an zwei aus ein und derselben Erde isolierten Reinkulturen vorgenommen wurden (Stamm 17 a und b Buitenzorg).

	17 a 1) Juli 1906	17 b 1) März 1908
	Anzahl der Sporen	
Breite 1,0 μ	11	3
„ 1,2 „	20	33
„ 1,4 „	14	14
„ 1,6 „	5	—
Mittel	1,27	1,24
Länge 1,6 μ	1	—
„ 1,8 „	3	3
„ 2,0 „	21	22
„ 2,2 „	12	17
„ 2,4 „	9	8
„ 2,6 „	2	—
„ 2,8 „	1	—
„ 3,0 „	1	—
Mittel	2,16	2,12

---

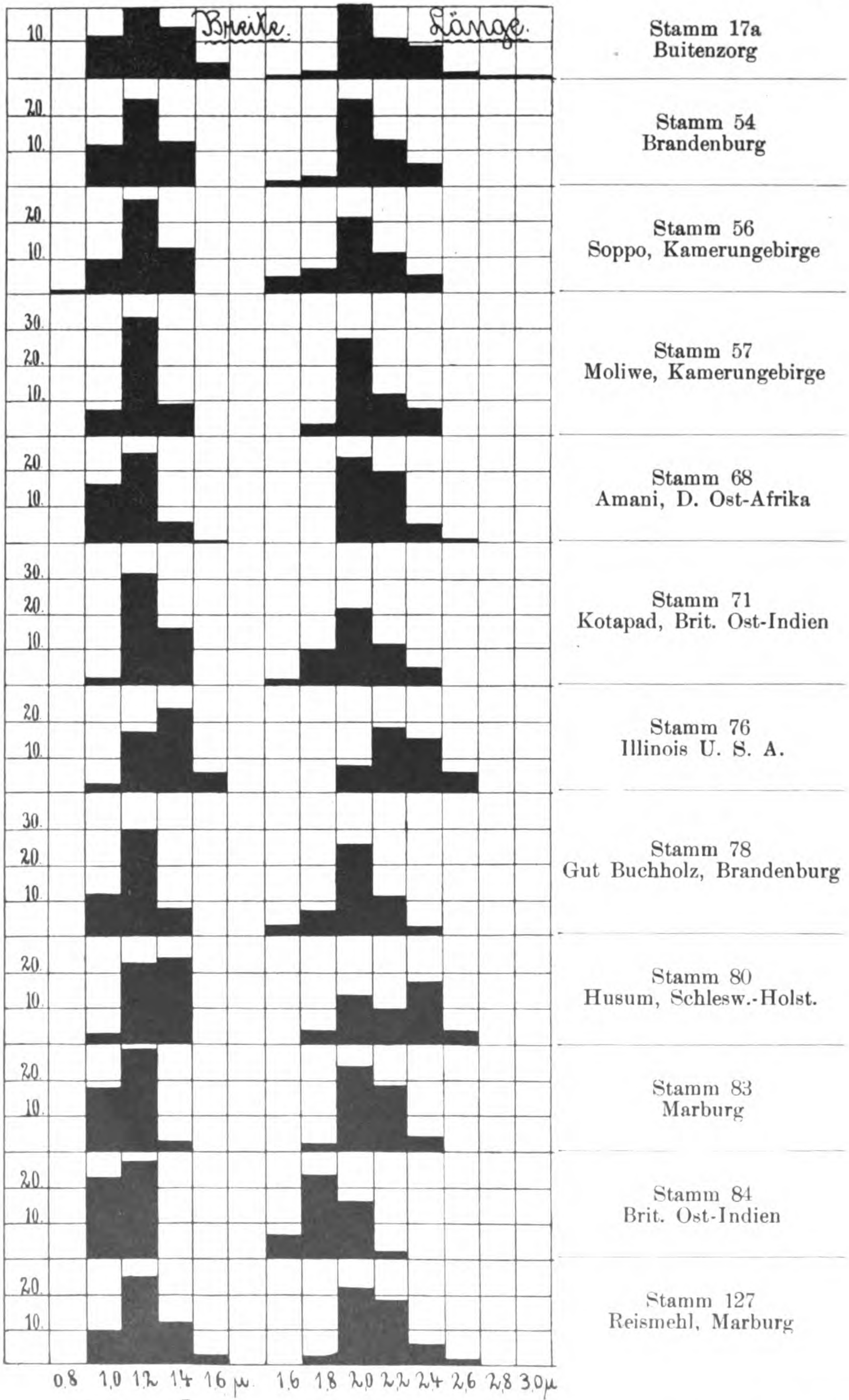
1) 17 a war seit 19. Jan. 1906 = ca. 6 Monate, 17 b seit 25. März 1906 = ca. 2 Jahre in Reinkultur. Bei ersterem erst kurze Zeit in Kultur befindlichem Stamme sind die Sporen relativ verschieden groß, während sie bei letzterem schon bedeutend einheitlicher geworden sind, die Mittelwerte stimmen aber trotzdem bei beiden gut überein, ebenso liegen die Gipfel der Kurven auf derselben Höhe.

Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XXIII.

G. Bredemann, Bacillus

Graphische Darstellung der Sporengröße der verschiedenen Stämme

(Nähere Erklä

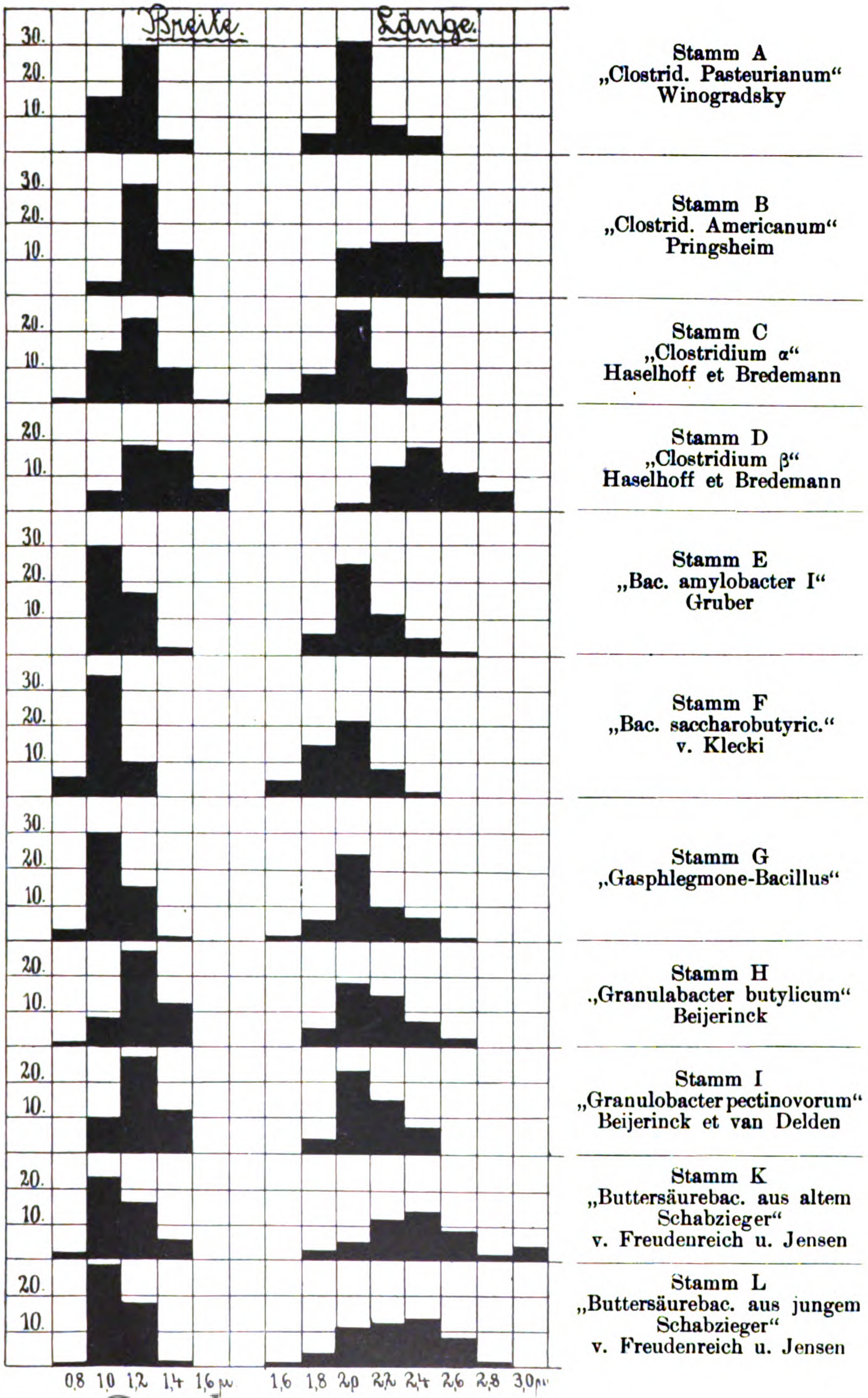


Verlag von Gustav

ylobacter* A. M. et *Bred. etc.

es Bacillus amylobacter (D-Agar, 1 mg Sauerstoff im Liter und 28°).

ng siehe p. 427)



Fischer in Jena.

Diese Zahlen erlauben bis zu einem gewissen Grade den Schluß, daß die Mittel der Sporengröße bei den verschiedenen Stämmen eine ziemlich konstante Eigenschaft ist, so daß man annehmen kann, daß die Schwankungen, welche die verschiedenen Stämme in ihrer Sporengröße zeigen (s. Tabelle VIII, p. 428) tatsächlich ziemlich konstante Eigenschaften der bezüglichen Stämme sind.

Es ist öfters beobachtet worden, daß die Sporengröße einer Species infolge fortgesetzter künstlicher Kultur allmählich abnimmt. Garbowski (1907) beobachtete z. B. an einem selbst aus Erde isolierten Stamme von Bac. tumescens Zopf, dessen mittlere Sporengröße nach 2 Monate dauernder Kultur auf $^1/_3$ D-Agar 2,17 μ betragen hatte, daß die Sporenlänge nach weiteren 6 Monaten auf demselben Nährboden auf 1,62 μ zurückgegangen war. Diese schnelle Herabminderung der Sporengröße bei Bac. tumescens hat, wie Garbowski zeigte, ihren Grund in dem Prozeß der Nachkeimung. Eine solche Nachkeimung habe ich bei meinen Kulturen nicht beobachtet, und damit wird es zusammenhängen, daß eine sehr weitgehende Konstanz in der Sporengröße zu verzeichnen ist. Leider sind damals direkt nach der Isolierung keine Messungen gemacht worden. Daß das Zurückgehen jedoch nicht erheblich sein kann, geht daraus hervor, daß die Sporen sämtlicher zum Teil schon seit vielen Jahren in Kultur befindlicher Originalstämme sich von der Sporengröße der seit 1—2 Jahre in Reinkultur befindlichen selbst isolierten Stämme kaum unterscheidet. Auch war zwischen der Sporengröße, als ein Stamm 6 Monate und 2 Jahre in Kultur war, kein Unterschied zu bemerken (s. oben).

In nachfolgender Tabelle VIII seien die für Länge und Breite der Sporen der verschiedenen untersuchten Stämme gefundenen Werte zusammengestellt. Die Messungen wurden ausgeführt an völlig ausgereiften, ca. 14 Tage bis 4 Wochen alten Sporen, die alle unter gleichen Bedingungen — D-Agar, 28° und einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter — entstanden waren.

Die sich aus dieser Tabelle VIII ergebenden Verhältnisse treten noch besser zutage aus den graphischen Darstellungen, wie sie nach diesen Messungen entworfen und in den Taf. III und IV wiedergegeben sind. Auf diesen Darstellungen sind die direkten Messungen eingetragen. Die Werte für Breite und Länge findet man auf der Abszisse, während von der Ordinate abzulesen ist, wieviel Stück von je 50 gezeichneten Sporen die verschiedene Breite und Länge besitzen.

Bei der Betrachtung der Tabelle VIII und der graphischen Darstellungen sieht man, daß sämtlichen Figuren, mit einer Ausnahme, eine eingipflige Kurve entsprechen würde und daß die Spitze dieser Variationskurve für die Breite der Sporen bei den verschiedenen Stämmen fast durchgehends bei 1,2 μ liegt — in 16 Fällen — nur in 5 Fällen liegt sie bei 1,0 μ und in 2 Fällen bei 1,4 μ, so daß die Schwankung also nur ± 0,2 μ beträgt. Auch für die Länge ist die Spitze der Variationskurve annähernd ebenso gleichwertig: 1mal liegt sie bei 1,8 μ, 16mal bei 2,0 μ, 1mal bei 2,2 μ, 1mal bei 2,2—2,4 μ und 4mal bei 2,4 μ, die Schwankung beträgt also ± 0,2—0,4 μ.

Demnach können wir wohl sagen, daß die Kurven in ihrem wesentlichen Charakter alle miteinander übereinstimmen. Die unwesentlichen Differenzen, welche man zwischen den verschiedenen Kurven zu verzeichnen hat, haben ihren Grund in der Ausbildung relativ wenig

Tabelle VIII.

Breite und Länge der Sporen der verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter. (D-Agar, 1 mg Sauerstoff im Liter und 28° C.)

	Stamm 17 a, Buitenzorg	Stamm 17 b, Buitenzorg	Stamm 54, Brandenburg	Stamm 56, Kamerun	Stamm 57, Kamerun	Stamm 68, Deutsch-Ostafrika	Stamm 71, Ostindien	Stamm 72, Marburg	Stamm 76, Illinois U. S. A.
	Anzahl der Individuen								
Breite 0,8 μ	.	.	.	1	.	.	.	.	.
„ 1,0 „	11	3	12	10	8	17	2	.	2
„ 1,2 „	20	33	25	26	33	25	32	.	18
„ 1,4 „	14	14	13	13	9	7	16	.	24
„ 1,6 „	5	.	.	.	.	1	.	.	6
„ 1,8 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	1,27	1,24	1,20	1,20	1,20	1,17	1,26	.	1,30
	Anzahl der Individuen								
Länge 1,4 μ	.	.	.		.	.	.	.	.
„ 1,6 „	1	.	2	5	.	.	2	.	.
„ 1,8 „	3	3	3	8	4	.	10	.	.
„ 2,0 „	21	22	24	21	27	24	22	.	8
„ 2,2 „	12	17	13	11	11	20	11	.	19
„ 2,4 „	9	8	8	5	8	5	5	.	16
„ 2,6 „	2	.	.	.	.	1	.	.	7
„ 2,8 „	1	.	.	.	.	.	.	.	.
„ 3,0 „	1	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	2,16	2,12	2,08	2,01	2,09	2,13	2,03	.	2,29

	Stamm 78, Brandenburg	Stamm 80, Husum	Stamm 83, Möhren Marburg	Stamm 84, Ostindien	Stamm 92, Kiautschou	Stamm 119, Hammerfest	Stamm 127, Marburg	Stamm A, Clostr. pasteurian.	Stamm B, Clostr. american.
	Anzahl der Individuen								
Breite 0,8 μ	.	.	.	.	.	5	.	.	.
„ 1,0 „	12	3	18	23	4	35	10	16	6
„ 1,2 „	30	23	29	27	32	10	25	30	31
„ 1,4 „	8	24	3	.	14	.	12	4	13
„ 1,6 „	.	.	.	.	.	.	3	.	.
„ 1,8 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	1,18	1,28	1,14	1,11	1,24	1,02	1,23	1,15	1,23
	Anzahl der Individuen								
Länge 1,4 μ	.	.	.	.	.	.	.	.	.
„ 1,6 „	3	.	.	8	.	9	.	.	.
„ 1,8 „	7	4	2	24	.	17	2	6	.
„ 2,0 „	27	14	25	16	14	22	22	31	13
„ 2,2 „	11	10	19	2	27	2	19	8	15
„ 2,4 „	2	18	4	.	9	.	6	5	15
„ 2,6 „	.	4	.	.	.	.	1	.	6
„ 2,8 „	.	.	.	.	.	.	.	.	1
„ 3,0 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	2,22	2,22	2,10	1,85	2,18	1,87	2,13	2,05	2,23

	Stamm C, Clostr. α	Stamm D, Clostr. β	Stamm E, Amylobacter Gruber	Stamm F, Saccharobutyr. Klecki	Stamm G, Gasphlegmone	Stamm H, Granulob. butylic.	Stamm I, Granulob. pectinovor.	Stamm K, alter Schabzieger	Stamm L, junger Schabzieger
	Anzahl der Individuen								
Breite 0,8 μ	1	.	.	6	3	1	.	2	1
„ 1,0 „	15	6	30	34	30	9	10	24	29
„ 1,2 „	23	19	18	10	16	28	28	17	18
„ 1,4 „	10	18	2	.	1	12	12	7	2
„ 1,6 „	1	7	.	.	.	.	.	.	.
„ 1,8 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	1,18	1,32	1,09	1,02	1,06	1,20	1,21	1,12	1,08
	Anzahl der Individuen								
Länge 1,4 μ	.	.	.	.	.	.	.	.	.
„ 1,6 „	3	.	.	5	2	.	.	.	1
„ 1,8 „	9	.	7	15	6	6	4	2	4
„ 2,0 „	26	2	24	21	24	19	23	6	11
„ 2,2 „	10	13	11	8	10	15	15	12	12
„ 2,4 „	2	19	5	1	7	8	8	14	13
„ 2,6 „	.	11	2	.	1	2	.	9	8
„ 2,8 „	.	5	1	.	.	.	.	2	1
„ 3,0 „	.	.	.	.	.	.	.	5	.
Mittel	2,00	2,42	2,07	1,94	2,07	2,12	2,11	2,35	2,24

größerer oder kleinerer Sporen, neben einer großen Zahl von konstanten Größen.

Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß der größte Teil dieser Schwankungen anscheinend auf die Vorbehandlung der Kultur zurückzuführen ist. Die graphischen Darstellungen sind so geordnet, daß auf der Tafel III die Sporengrößen der selbst isolierten Stämme, auf der Tafel IV die Sporengrößen der zum Vergleich herangezogenen Originalstämme anderer Autoren eingetragen sind. Die Kurven der selbst isolierten, also annähernd gleich behandelten Stämme stimmen fast völlig untereinander überein, besonders auffällig ist die beinahe absolute Gleichmäßigkeit in der Breite, wie sich ja überhaupt die Kurven für die Breiten als die konstantesten erwiesen haben. Vergl. hierzu auch meine Untersuchungen über die Sporengröße der 27 verschiedenen Stämme des Bac. asteroporus A. M. (1908). Die Ergebnisse derselben korrespondieren in fast allen Punkten mit den hier mitgeteilten.

Die den Figuren der beiden graphischen Darstellungen entsprechenden eingipfeligen Variationskurven steigen schnell an und fallen etwas langsamer, wie das auch bei der aus der Summe der 2600 Einzelmessungen berechneten allgemeinen Variationskurve aller Stämme (Fig. 10) sehr gut zu sehen ist. Im übrigen tritt es wieder sehr deutlich hervor, wie diejenigen Stämme, welche bei der Untersuchung noch nicht genügend „gekräftigt“ waren und sich bezüglich ihres Entwickelungsganges von Spore zu Spore noch anormal verhielten (Stamm K und L auf Tafel IV), auch anormale Variationskurven besitzen, wie ja leicht erklärlich.

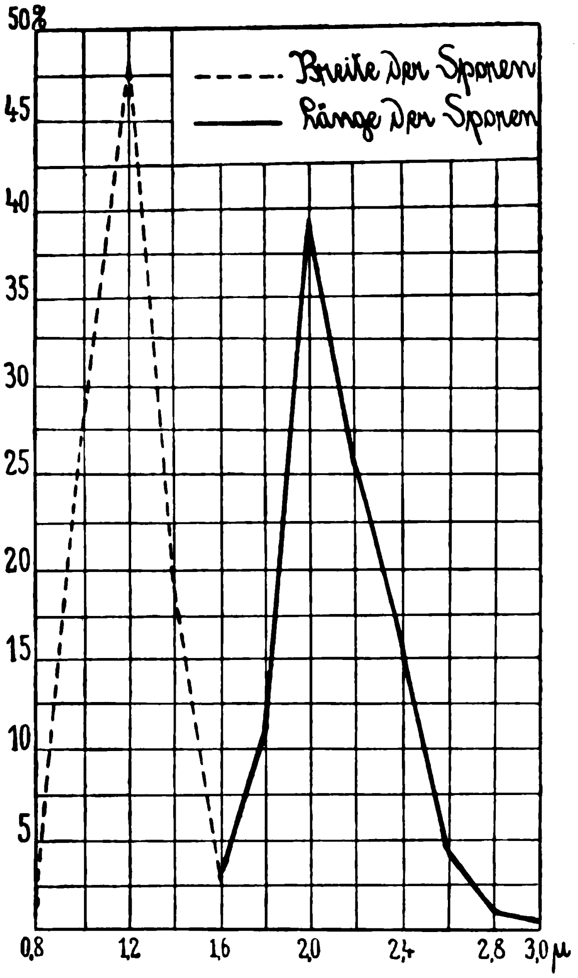


Fig. 10 1). Variationskurve der Sporengröße des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann (D-Agar, 28°, 1 mg O).

Fassen wir alle Messungen der, wie es sich gezeigt hat, in ihrer Sporengröße ziemlich konstanten Stämme zusammen, um so eine Variationskurve für die Species zu gewinnen, so erhalten wir folgende auf 1000 berechnete Zahlen, aus denen die in Fig. 10 dargestellte Variationskurve abgeleitet ist.

---

1) Vergl. damit die einen ganz ähnlichen übereinstimmenden Verlauf zeigenden Variationskurven der Sporengröße des Bac. asteroporus A. M. (1908. p. 64).

Von 1000 Sporen des Bac. amylobacter sind:

breit 0,8 μ	15	Stück	lang 1,6 μ	32	Stück
„ 1,0 μ	285	„	„ 1,8 μ	112	„
„ 1,2 μ	482	„	„ 2,0 μ	392	„
„ 1,4 μ	192	„	„ 2,2 μ	256	„
„ 1,6 μ	26	„	„ 2,4 μ	154	„
			„ 2,6 μ	42	„
			„ 2,8 μ	8	„
			„ 3,0 μ	4	„

Daraus berechnet sich ein Mittelwert durch Addition der einzelnen Werte und Division durch 1000

für Breite = 1,19 μ
„ Länge = 2,11 μ

Der Mittelwert (Galtons Mediane) nach Davenport, „Statistical methods“ berechnet, ergibt

für Breite = 1,18 μ
„ Länge = 2,08 μ

Bei Betrachtung der in Fig. 10 dargestellten Variationskurven für die Sporengröße der Species wird uns eine große Uebereinstimmung im Verlaufe der beiden Kurven auffallen. Die Kurve für die Breite steigt, bei 1,5 Proz. von 0,8 μ Breite beginnend, in fast gerader Linie zum Maximum (48,2 Proz. von 1,2 μ Breite), um dann fast ebenso wieder zu fallen bis 2,6 Proz. von 1,6 μ Breite. Aehnlich ist die Kurve für die Länge beschaffen, beginnend bei 3,2 Proz. von 1,6 μ Länge steigt sie schnell zum Gipfel (39,2 Proz. von 2,0 μ Länge), um allmählicher wieder zu fallen auf 0,4 Proz. von 3 μ Länge.

Vergleichen wir die Angabe anderer Autoren über die Sporengröße ihrer Stämme mit unseren Werten. In vielen Fällen fehlen leider Angaben über Kulturbedingungen: Nährboden, Temperatur und Luftverdünnung, so daß mit den Angaben zum Teil nicht viel zu machen ist.

Stamm A. „Clostridium Pasteurianum“ Winogradsky, wahrscheinlich in stickstofffreier Nährlösung: 1,6 μ lang, 1,3 μ breit (1902).

Stamm C. „Clostridium α“ Haselhoff et Bredemann in stickstofffreier Nährlösung: zwischen 1,2 und 2,0 μ lang, 1,0—1,4 μ breit (1906).

Stamm D. „Clostridium β“ Haselhoff et Bredemann in stickstofffreier Nährlösung: 1,6—2,0 μ lang, 1,0—1,4 breit (1906).

Stamm E. „Bac. amylobacter I“ Gruber, bis 3 μ lang, 1—1,2 μ breit, Kulturbedingungen? (1887).

Stamm H. „Granulobacter butylicum“ Beijerinck, sehr oft 2 μ lang und 1 μ dick, in nahezu neutraler Würze der Malz-Roggen-Maische der Preßhefenfabriken von ca. 10 Saccharometergraden (1896. p. 31).

Stamm J. „Granulobacter pectinovorum“ Beijerinck et van Delden, 1,8 : 1,2 μ, Nährboden? (1906).

Ueber andere Bakterien, von denen ein Teil sicherlich mit unserem Bac. amylobacter identisch sein wird, finden sich folgende Angaben:

Winogradskys Clostridium aus Wolhynien, lang 1,9 μ, breit 1,5 μ (1902).

Winogradskys-Fribes Flachsrösteerreger, lang 1,8 μ, breit 1,2 μ (1895).

Behrens' Hanfröste-Clostridium, lang 1,5 μ, breit 1,0 μ (1902).

Störmers Plectridium pectinovorum (lebend), nie unter 2,5 × 1,6 μ, meistens 2,8 × 1,8 μ, nicht selten auch 3 × 2 μ (1904. p. 182).

Schardingers Clostridium aus Weizenmehl, lang 2,0 μ, breit 1,0 μ (1907).

Haselhoff und Bredemanns stickstoffsammelndes Clostridium δ, lang 1,4—1,8 μ, breit 0,8—1,2 μ, Mittel 1,6 : 09 (1906).

Haselhoff und Bredemanns stickstoffsammelndes Clostridium ε, lang 1,9—2,1 μ, breit 1,0—1,2 μ.

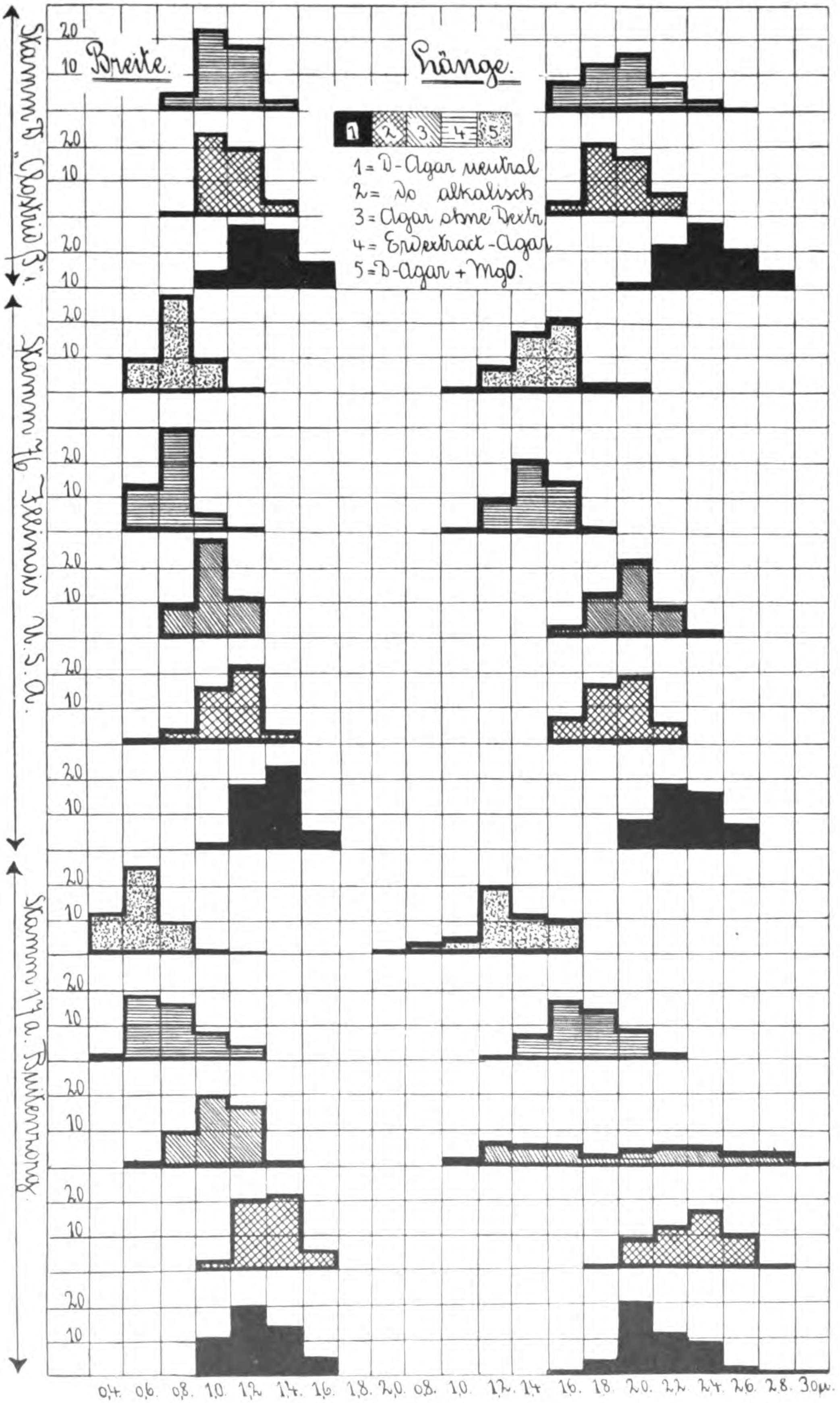
Grubers Bac. amylobacter II, lang 1,5 μ, breit 0,8—1,0 μ (1887).

Grassberger und Schattenfrohs beweglicher Buttersäurebacillus, lang 1,8—2,3 μ, breit 1,3—1,7 μ, auf Zuckeragar (1902).

G. Bredemann, Bacillus

Graphische Darstellung der Größe der auf verschiedenen

(Nähere Erklärung

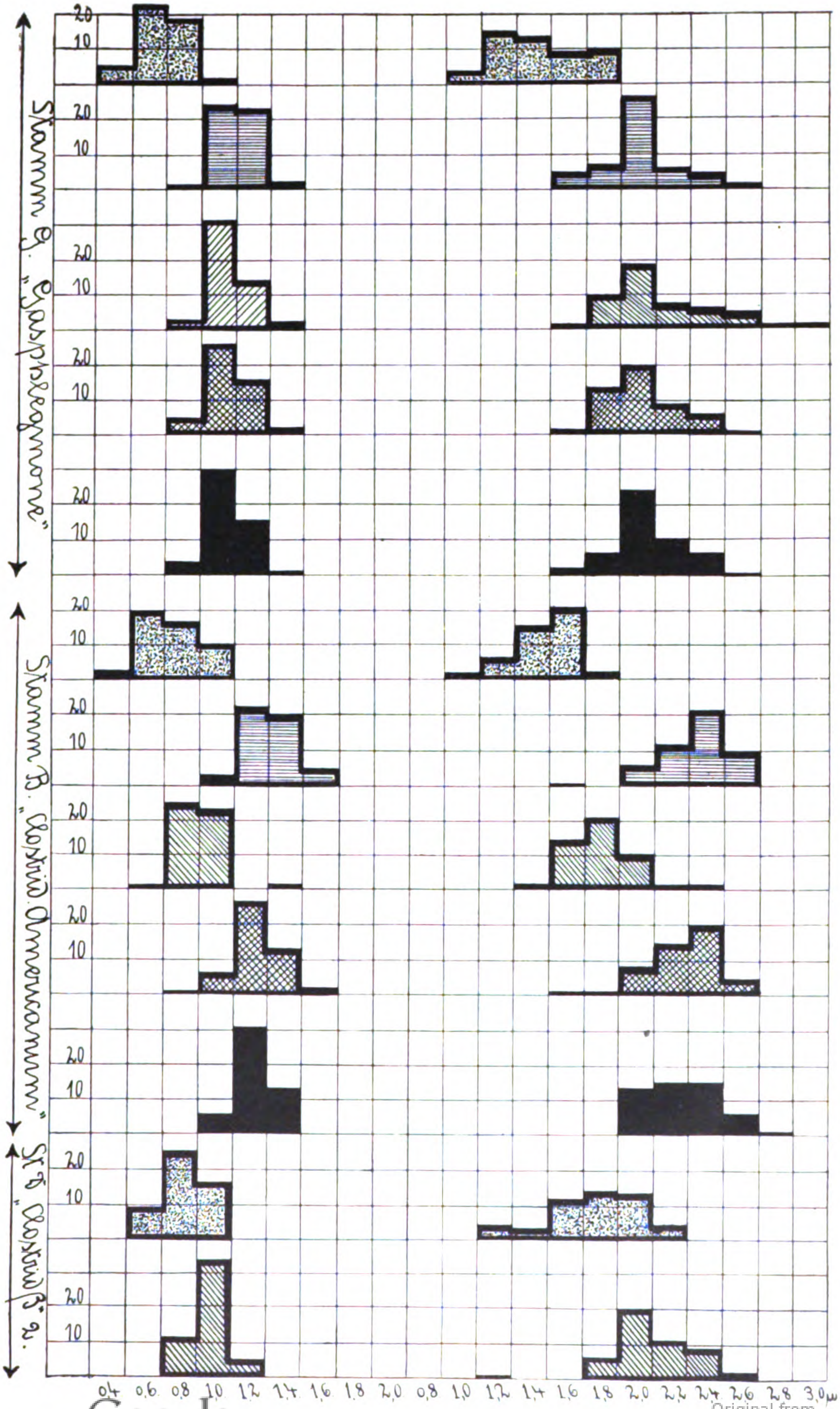


Verlag von Gustav

lobacter A. M. et Bred. etc.

ihrböden ausgebildeten Sporen des Bacillus amylobacter.

g siehe p. 431)



Fischer in **Jena.**

Grassberger und Schattenfrohs unbeweglicher Buttersäurebacillus, lang bis 2,3 μ, breit bis 2,0 μ, auf alkalischem 0,1 proz. Reisstärkeagar im **Buchner**-Rohr bei 37° (1900).

Prażmowskis Clostridium butyricum, lang 2,0—2,5 μ, breit 1,0 μ (1880).

Es erschien mir nun interessant, auch **die Größe der auf anderen Nährböden entstehenden Sporen** zu untersuchen und dabei festzustellen, ob die Verschiedenheiten, welche die Sporen ein und desselben Stammes auf verschiedenen Nährböden zeigen würden, für alle Stämme gleichsinnig seien, ob also auch auf den jeweilig verschiedenen Nährböden von den verschiedenen Stämmen jeweilig gleich große Sporen erzeugt würden. Als Nährböden wurden verwendet[1]:

1. D-Agar neutral,
2. D-Agar alkalisch,
3. Agar ohne Dextrose,
4. Erdextraktagar,
5. D-Agar + MgO.

Zur Impfung dienten 5 Minuten lang auf 80° erhitzte Sporen, welche **bis dahin auf D-Agar** gezüchtet waren. Alle Kulturen wurden bei einer Temperatur von 28° und bei einer Luftverdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter gehalten. In nachfolgender Tabelle IX sind sämtliche erhaltenen Werte zusammengestellt in der Weise, daß aus der Zusammenstellung die verschiedenen Größen der auf den verschiedenen Nährböden entstandenen Sporen ein und desselben Stammes zu ersehen sind,

(Siehe Tabelle IX p. 432 u. 433.)

Wir sehen da den Einfluß des Nährbodens sehr schön hervortreten. Die Differenzen in der mittleren Breite der auf den verschiedenen Nährböden ausgebildeten Sporen ein und desselben Stammes betragen bis 50 Proz. (1,31 und 0,62 μ) und mehr (1,30 und 0,57 μ). Bezüglich der Länge sind die Verschiedenheiten nicht ganz so groß, die größte beträgt ca. 45 Proz. (2,32 und 1,27 μ).

Daß solche Verschiedenheiten in der Sporengröße durch verschiedene Nährböden hervorgebracht werden, ist an sich nichts Neues und war auch hier zu erwarten, interessanter war für unsere Frage nach der Zugehörigkeit aller dieser Stämme zu einer Species, ob diese Verschiedenheiten bei allen Stämmen wieder in gleicher Weise zutage treten und sich die auf den verschiedenen Nährböden ausgebildeten Sporen wieder gleich verhalten würden. Zu diesem Zwecke sind die erhaltenen Werte einmal in Zahlen (Tabelle IX) zusammengestellt und dann auch wieder in graphischer Weise (Tafel V und VI), in derselben Art, wie das früher für die auf D-Agar entstandenen Sporen der verschiedenen Stämme geschehen war (Tafel III und IV), wobei die verschiedenen Nährböden durch verschiedene Strichelung und Punktierung gekennzeichnet sind (siehe graphische Darstellung Taf. V u. VI).

Aus dieser graphischen Darstellung geht ohne weiteres hervor, daß die Gipfel der Kurven sich alle im Wesen gleichartig bei allen Stämmen verhalten, und zwar bleiben sie entweder auf derselben Sporengröße liegen, oder sie verschieben sich nach einer kleineren Sporengröße zu. Im einzelnen ist diese Verschiebung bei den verschiedenen Stämmen verschieden groß, am meisten beeinflußt der Nährboden D-Agar + MgO, doch zeigt es sich, daß die Verschiebungen der Gipfel ziemlich gleich-

---

[1] Genaue Zusammensetzung siehe p. 461.

Tabelle

	Stamm 17a. Buitenzorg					Stamm 76. Illinois					Stamm B. „Clost. americ." Pringsheim					Stamm phleg-	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar + MgO	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar + MgO	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar + MgO	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch
Breite der Sporen in μ	Anzahl der																
0,4	.	.	.	1	12	.	.	.	14	.	.	.	.	.	3	.	.
0,6	.	.	2	19	26	.	2	.	30	10	.	.	1	.	20	.	.
0,8	.	.	10	17	9	.	4	10	5	29	.	1	25	.	17	3	6
1,0	11	4	20	9	2	2	17	29	1	10	6	7	23	3	10	30	26
1,2	20	20	17	4	1	18	23	11	.	1	31	27	—	22	.	16	16
1,4	14	21	1	.	.	24	4	.	.	.	13	13	1	20	.	1	2
1,6	5	5	.	.	.	6	.	.	.	.	.	2	.	5	.	.	.
1,8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2,0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	**1,27**	**1,31**	**1,01**	**0,78**	**0,62**	**1,30**	**1,09**	**1,00**	**0,57**	**0,81**	**1,23**	**1,23**	**0,90**	**1,25**	**0,74**	**1,06**	**1,07**
Länge der Sporen in μ	Anzahl der																
0,6	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,8	.	.	.	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,0	.	.	2	.	5	.	.	.	1	1	.	.	.	.	2	.	.
1,2	.	.	7	1	20	.	.	.	10	7	.	.	.	.	7	.	.
1,4	.	.	6	7	11	.	.	.	21	17	.	.	2	.	16	.	.
1,6	1	.	6	17	10	.	8	3	16	21	.	1	15	1	21	2	1
1,8	3	1	3	14	.	.	17	14	2	2	.	1	21	—	2	6	13
2,0	21	9	5	9	.	8	19	22	.	2	13	8	10	6	2	24	20
2,2	12	12	6	2	.	19	6	9	.	.	15	15	1	12	.	10	9
2,4	9	17	6	.	.	16	.	2	.	.	15	20	1	21	.	7	6
2,6	2	10	4	.	.	7	.	.	.	.	6	5	.	10	.	1	1
2,8	1	1	4	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.
3,0	1	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	**2,16**	**2,32**	**1,92**	**1,71**	**1,27**	**2,29**	**1,89**	**1,97**	**1,41**	**1,47**	**2,23**	**2,25**	**1,78**	**2,33**	**1,48**	**2,07**	**2,04**

artig werden: bei der Breite findet die Verschiebung 3mal um 0,6 μ und 2mal um 0,4 μ nach unten zu statt, bei der Länge 3mal um 0,8 μ und 2mal um 0,6 μ. Die anderen Nährböden beeinflussen weniger regelmäßig, beim Erdagar z. B. ist bei der Breite 4mal keine Verschiebung des Gipfels zu konstatieren, 2mal ist er um 0,2 μ und 2mal um 0,6 μ nach unten hin verschoben, bei der Länge ist in 3 Fällen keine Verschiebung zu bemerken, in 2 Fällen ist der Gipfel um 0,4 μ nach unten zu, in einem um 0,4 μ nach oben zu verlegt, während er in einem anderen Falle um 0,8 μ nach unten zu verlegt ist. Aehnlich sind die Verhältnisse bei den übrigen Nährböden. Beim Agar ohne Dextrose z. B. ist bei der Länge der Gipfel 2mal unverändert geblieben, einmal ist er um 0,2 μ nach oben und einmal um 0,2 μ nach unten verschoben, 2mal ist eine Verschiebung um 0,4 μ nach unten und einmal eine solche nach

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

IX.

G. „Gasmone“			Stamm D. „Clostr. β“ Haselhoff u. Bredemann					Stamm 68. D. Ostafrika				Stamm C. „Clostrid. α“ Haselhoff u. Bredemann				Stamm H. „Granul. butyl.“ Beijerinck		
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar + MgO	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar + MgO	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar neutral	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erdagar	D-Agar neutral	Agar ohne Dextrose	Erdagar
Sporen																		
.	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	24	.	.	.	.	9	.	.	1	.	.	1	.	.	.	.	.
3	1	19	.	2	12	5	25	.	.	15	7	1	2	.	.	1	1	1
31	24	2	6	24	34	23	16	15	14	30	26	15	30	14	16	9	16	2
14	23	.	19	20	4	18	.	25	25	4	13	23	17	26	24	28	28	21
2	2	.	18	4	.	4	.	7	7	.	3	10	.	7	9	12	5	20
.	.	.	7	.	.	.	.	1	4	.	1	1	.	2	1	.	.	6
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.
1,06	**1,14**	**0,67**	**1,32**	**1,10**	**0,97**	**1,03**	**0,83**	**1,17**	**1,20**	**0,94**	**1,08**	**1,18**	**1,05**	**1,20**	**1,18**	**1,20**	**1,15**	**1,31**
Sporen																		
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	15	.	.	.	.	4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	13	.	1	1	.	3	.	.	5	1	.	4	.	1	.	.	.
1	5	9	.	5	—	9	12	.	1	5	5	3	14	.	5	.	.	.
10	8	10	.	21	7	13	14	.	2	11	5	9	14	1	7	6	3	1
19	26	.	2	17	20	16	13	24	25	20	21	26	18	7	18	19	16	4
7	7	.	13	6	11	8	4	20	12	6	8	10	.	15	9	15	18	11
6	3	.	19	.	9	3	.	5	5	3	7	2	.	18	7	8	13	26
5	1	.	11	.	2	1	.	1	4	.	2	.	.	9	3	2	.	8
1	.	.	5	.	.	.	.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	.	.
1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2,12	**1,99**	**1,38**	**2,42**	**1,89**	**2,10**	**1,94**	**1,70**	**2,13**	**2,16**	**1,90**	**2,06**	**2,00**	**1,78**	**2,31**	**2,05**	**2,12**	**2,12**	**2,34**

oben zu erfolgt; bei der Breite ist er 3mal unverändert geblieben, in je 2 Fällen findet eine Verschiebung um 0,2 bezw. 0,4 μ nach unten zu statt. Beim alkalischen D-Agar ist der Gipfel für die Breite in 3 Fällen unverändert geblieben, in 4 Fällen hat er sich um 0,2 μ verschoben, 3mal nach unten, einmal nach oben zu. Aus diesen Darstellungen dürfte hervorgehen, daß die Verschiebungen im allgemeinen recht gleichartig ausgefallen sind. Man darf dabei nicht vergessen, den Umstand in Betracht zu ziehen, daß alle diese Stämme bislang stets auf D-Agar kultiviert worden waren, und daß es das erste Mal ist, daß eine Aenderung im Nährboden stattfand. Dies ist der hauptsächlichste Grund dafür, daß die mittleren Größen der Sporen der verschiedenen Stämme, welche auf einem jeweiligen Nährboden entstanden sind, nicht besonders gut untereinander übereinstimmen, man kann hier die Beobachtung machen, daß mit der stärksten Veränderung des Nährbodens (Erdagar) auch die größten Differenzen untereinander auftreten, wie das aus der Zusammenstellung in Tabelle X gut hervorgeht.

Tabelle X.

		Stamm 17a	Stamm 76	Stamm B	Stamm G	Stamm D	Stamm 68	Stamm C	Stamm H	Größte Differenz zwischen dem kleinsten u. größten Durchschnittswert
D-Agar neutral	breit	1,27	1,30	1,23	1,06	1,32	1,17	1,18	1,20	0,26
	lang	2,16	2,29	2,23	2,07	2,42	2,13	2,00	2,12	0,29
D-Agar alkalisch	breit	1,31	1,09	1,23	1,07	1,10	1,20	1,05	—	0,26
	lang	2,32	1,89	2,25	2,04	1,89	2,16	1,78	—	0,54
Agar ohne Dextrose	breit	1,01	1,00	0,90	1,06	0,97	0,94	1,20	1,15	0,30
	lang	1,92	1,97	1,78	2,12	2,10	1,90	2,31	2,12	0,53
Erdagar	breit	0,78	0,57	1,25	1,14	1,03	1,08	1,18	1,31	0,74
	lang	1,71	1,41	2,33	1,99	1,94	2,06	2,05	2,34	0,93
D-Agar + MgO	breit	0,62	0,81	0,74	0,67	0,83	—	—	—	0,21
	lang	1,27	1,47	1.48	1,38	1,70	—	—	—	0,43

Man darf wohl annehmen, daß sich bei läugerer Fortzüchtung auf den veränderten Nährböden die Verhältnisse gleichmäßiger gestalten würden. Hierüber sind weiter keine Versuche angestellt worden, nur bei einem Stamm (Stamm C „Clostridium α“ Haselhoff et Bred.) wurden auch die Sporengrößen der zum zweiten Male auf den geänderten Nährböden entstandenen Generation gemessen. Nach den erhaltenen Werten (die in Klammern beigefügten Zahlen sind die Werte für die erste Generation) scheint nicht zu erwarten zu sein, daß bei einer längeren Kultur infolge der Anpassung an das Nährsubstrat wieder eine Vergrößerung der Sporen eintreten würde, es scheint vielmehr, als habe durch den Nährboden eine Schwächung der Stämme stattgefunden.

Größe der Sporen, welche zum zweiten Male auf dem veränderten Nährboden entstanden sind.

	D-Agar alkalisch	Agar ohne Dextrose	Erd-Agar
breit 0,6 μ	— (1)	— (—)	— (—)
„ 0,8 μ	6 (2)	3 (—)	— (—)
„ 1,0 μ	30 (30)	23 (14)	17 (16)
„ 1,2 μ	13 (17)	20 (26)	30 (24)
„ 1,4 μ	1 (—)	4 (7)	3 (9)
„ 1,6 μ	— (—)	— (2)	— (1)
„ 1,8 μ	— (—)	— (0)	— (—)
„ 2,0 μ	— (—)	— (1)	— (—)
Mittel	1,04 (1,05)	1,10 (1,20)	1,14 (1,18)
lang 1,4 μ	3 (4)	— (—)	— (1)
„ 1,6 μ	15 (14)	3 (—)	3 (5)
„ 1,8 μ	26 (14)	20 (1)	14 (7)
„ 2,0 μ	5 (18)	18 (7)	26 (18)
„ 2,2 μ	1 (—)	5 (15)	6 (9)
„ 2,4 μ	— (—)	2 (18)	1 (7)
„ 2,6 μ	— (—)	2 (0)	— (3)
Mittel	1,74 (1,78)	1,96 (2,31)	1,95 (2,05)

b) Sporenkeimung und Oidien.

Bezüglich der **Keimung** ist den Mitteilungen **Winogradskys** (1902) und **Prażmowskis** (1880) nichts wesentlich Neues hinzuzufügen. **Winogradsky** gibt sehr schöne photographische Aufnahmen, die den Sporenkeimungsprozeß Schritt für Schritt photographisch illustrieren. Die Keimung scheint stets polar zu sein, wenigstens habe ich andere Fälle nie beobachtet, außer daß das Keimstäbchen ein wenig seitlich heraustrat. Waren Reste der Sporangienmembran an der Spore erhalten geblieben, so erfolgte die Keimung stets, wie das auch **Winogradsky**, **Prażmowski** und **Haselhoff** und **Bredemann** beobachteten, in der Richtung gegen die Oeffnung. Die Sporen werden, wie allgemein, vor der Keimung matt, dann schwellen sie nicht unerheblich an, nach der Keimung bleiben die Sporenmembranen samt eventuell vorhandenen Sporangienresten noch verhältnismäßig lange Zeit erhalten. Auf alle diese Erscheinungen haben schon **Prażmowski** und **Winogradsky** aufmerksam gemacht.

Beweglichkeit. Das Keimstäbchen begeißelt sich bald nach der Keimung, sehr häufig kann man junge Schwärmer beobachten, die noch die Sporenmembran mit sich schleppen. Ueberhaupt ist die Schwärmfähigkeit des **Bac. amylobacter** eine außerordentlich große, auch Sporangien, die schon reife Sporen in sich tragen, bewegen sich noch ebenso kräftig, wie junge Keimstäbe, nur langsamer[1]). Die Geißelfärbung gelingt nach der **Löfflerschen** Methode nicht unschwer, man erkennt dann verschieden zahlreiche peritrich angeordnete Geißeln von sehr verschiedener Länge (s. Taf. I, Fig. 21—24). Es ist bemerkenswert, daß **Winogradsky** und auch **Haselhoff** und **Bredemann** bei ihren Kulturen die Schwärmfähigkeit nur in sehr geringem Maße ausgeprägt fanden. **Winogradsky** schreibt: „Ein noch nicht ganz aufgeklärter Punkt ist die Schwärmfähigkeit bei **Clostridium Pasteurianum**. Einige Male habe ich sie ganz deutlich beobachtet. Beweglich sind hauptsächlich die jungen Stäbchen, seltener sieht man spindelförmige Individuen sich bewegen, noch seltener bereits sporogene Körner tragende. Zweifellos ist die Schwärmfähigkeit, obgleich vorhanden, doch eine sehr beschränkte.“ Ich weiß nicht, wodurch meine gegenteiligen Befunde, die übrigens mit denen von **Prażmowski** und **Grassberger** und **Schattenfroh** übereinstimmen, zu erklären sind; sowohl in Rohkulturen in stickstofffreier Nährlösung, auch in solchen, die im offenen Röhrchen angesetzt waren, als auch in Reinkulturen war bei allen meinen Versuchen die Schwärmfähigkeit eine außerordentlich stark ausgeprägte. Das Schwärmen wird durch Zutritt von Sauerstoff nur langsam sistiert, unter dem Deckglase schwärmen die Individuen bis zum Austrocknen fast unvermindert weiter[2]). Wurden lebhaft schwärmende Morphoden, die im Vakuum bei 1 mg Sauerstoff gewachsen waren, auf neuen D-Agar gebracht und bei 28° C völlig aërob gehalten (s. a. p. 457), so konnten auf der Agaroberfläche nach 1—1½ Stunden noch vereinzelte Schwärmer angetroffen werden, nach 6 Stunden war im Kondenswasser die Schwärmfähigkeit noch fast unverändert. Ein Unterschied in der Intensität der Schwärmfähigkeit trat bei keinem meiner Stämme hervor, auch beim Winogradskyschen Originalstamm und den beiden Originalstämmen Clostridium α und β von Haselhoff und Bredemann war die Beweglichkeit der Individuen ebenso kräftig, wie bei den übrigen Stämmen, so daß meine damalige Angabe also korrigiert werden muß. Daß es gelungen ist, auch den sogenannten „Gasphlegmonestamm" zu einer kräftigen Schwärmfähigkeit zu bringen und ihm dieselbe unverändert ebenso wie die Sporenbildung beizubehalten, ist schon früher erwähnt worden (s. a. p. 403).

---

[1]) Alle Beobachtungen beziehen sich, wenn nichts anderes ausdrücklich bemerkt ist, auf D-Agar Kulturen, die bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter und 28° C gehalten wurden.

[2]) Eine solch außerordentliche Empfindlichkeit gegen Sauerstoff, wie sie **Grassberger** und **Schattenfroh** (1902) bei ihrem „beweglichen Buttersäurebacillus“ beobachteten, dessen Eigenbewegung schon erlosch, bevor man die Beobachtung im Mikroskop begann, konnte ich, sofern die Schwärmfähigkeit überhaupt gut war, nicht bemerken. Vielleicht hängt das von **Grassberger** und **Schattenfroh** beobachtete schnelle Erlöschen der Schwärmfähigkeit von irgend einem Nebenumstand ab.

Interessant ist, um das noch zu erwähnen, daß es bei lebenden Schwärmsporangien bisweilen den Anschein erweckt, als bewege sich die Spore in einer weichen Inhaltsmasse des Sporangiums umher, wie das auch schon Beijerinck beschrieb. Grassberger und Schattenfroh (1902), welche diese Erscheinung ebenfalls beobachteten, bemerken ganz richtig, daß die Spore in Wirklichkeit ihre Stellung nicht verändert, sondern daß die Erscheinung bei schräg liegender Spore durch eine Rotation der Sporangien vorgetäuscht wird.

Form und Größe. Die Breite der Keimstäbchen beträgt ca. 0,6—0,8 μ, sehr selten betrug sie einmal 1,0 μ, dickere Keimstäbchen habe ich nicht beobachtet. Die Länge ist sehr verschieden, die erste Teilwand wird verschieden schnell angelegt. Die nun frei werdenden Schwärmer verdicken sich meist sehr bald, ohne jedoch schon spindelförmig oder trommelschlägerförmig anzuschwellen, behalten also zunächst noch ihr zylindrisches Aussehen bei. Diese Stäbe, die man auf D-Agar bei 28° C (1 mg O) nach ungefähr 16 Stunden findet, sind 1,0—1,2 μ dick und 3—12 μ lang, längere Fäden kommen auf Agar selten vor, wohl aber in einigen Nährlösungen (s. Taf. II), dagegen trifft man auf Agar sehr häufig längere Ketten aus verschieden vielen Gliedern. Diese dicken Stäbe schwellen dann schnell weiter zur Sporangienbildung an und nehmen dabei ganz verschiedene Formen an. Es ist sehr bemerkenswert, daß sich einige der Stäbchen scheinbar aus irgendwelchen Gründen nicht verdicken, sondern die Breite der Keimstäbchen (0,6—0,8 μ) beibehalten. Beobachtet man eine etwa 48 Stunden alte Kultur, in der man stets alle Morphoden, meist lebhaft bewegliche, sich zu Sporangien umbildende angeschwollene Oidien und fertige Sporangien sehen wird, so kann man oft neben diesen dicken Formen die dünnen Stäbchen finden, welche sich gar nicht verdickt und auch keine Reservestoffe gespeichert haben. Diese auffallenden Unterschiede — Stäbchen von 0,6—1,4 μ und dicker — könnten den Eindruck einer unreinen Kultur erwecken, und ich habe auch in der ersten Zeit meiner Untersuchungen oft an Verunreinigungen meiner Kulturen gedacht, bis ich mich dann durch sehr oft wiederholte Beobachtungen an ganz unzweifelhaften Reinkulturen davon überzeugt habe, daß tatsächlich verschiedene Morphoden ein und desselben Stammes vorlagen. Man wird überhaupt oft überrascht sein von der Reichhaltigkeit der verschiedenen Formen, welche man in ein und demselben Präparat zu beobachten Gelegenheit hat, besonders bei erst kürzere Zeit in Reinkultur befindlichen Stämmen; später, wenn der Stamm erst längere Zeit in Kultur ist, verschwinden die Unregelmäßigkeiten mehr und mehr, aber nie ganz. Ob die erwähnten dünnen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Stäbe später auch noch anschwellen und Sporen bilden, oder ob sie überhaupt krankhaft sind und vorher absterben, ist schwer zu sagen; in aus vorwiegend Sporen bestehenden Kulturen findet man sie nicht mehr vor.

c) Die Sporangien.

Die anschwellenden Stäbe bilden sich meist schnell zu Sporangien um, dabei meist noch weiter anschwellend und verschiedene Gestalt annehmend. Die Form der entstehenden Sporangien ist äußerst verschieden. Im allgemeinen ist in Reinkulturen, die schon längere Zeit sich in Kultur befinden, die typische Spindelform die vorherrschende, doch finden sich auch alle anderen Formen vor, von denen einige in Taf. I, Fig. 41—74 abgebildet sind: rein zylindrische bis fast kugelig angeschwollene, keulenförmige, trommelschlägerförmige etc., dann bisweilen noch anormale Formen, von denen auf Taf. I, Fig. 61, 65, 66—74, 52 a nur einige Beispiele abgebildet sind, bisweilen findet man die abenteuerlichsten Gebilde, wie z. B. solche der Taf. II, Fig. 1 und 6 (in Rohkulturen in stickstoffreier Nährlösung) und der Taf. II, Fig. 19 und 20 (in Dextrose-Pepton-Nährlösung). Die Lage der Sporen ist ebenfalls verschieden, im allgemeinen liegt die Spore dem einen Pole zu genähert, selten ganz polar oder zentral, meist, sofern die Form keulig oder trommelschlägerartig ist, in dem angeschwollenen, bisweilen aber auch in dem nicht verdickten Teile (Taf. I, Fig. 52, 62). Sporangien mit 2 Sporen, welche dann an 2 entgegengesetzten Enden liegen, kommen ebenfalls nicht selten vor; solche Sporangien zeigen oft in der Mitte eine Einschnürung (Taf. I, Fig. 63), ohne jedoch ein Membran erkennen zu lassen, doch wird die Einschnürung darauf hindeuten, daß es sich um ursprünglich in Teilung befindlich gewesene Individuen handelt, welche dann diese nicht vollzogen haben und trotzdem zur Sporenbildung gekommen sind; auffällig bleibt allerdings, daß die Sporen immer an den entgegengesetzten Enden entstehen und nie dort, wo die Teilwand angelegt werden sollte, wie man es oft bei Sporangien, welche noch in Ketten zusammenhängen, findet, daß die sporentragenden Pole sich berühren (Taf. I, Fig. 50). In anderen Fällen wieder ist in solchen 2 Sporen enthaltenden Sporangien keine Andeutung einer Zweiteilung vorhanden (Taf. I, Fig. 61, 64). Sporangien mit mehr als 2 Sporen habe ich nie gesehen. Diese Beobachtungen stimmen genau mit denen anderer Autoren (Prażmowski 1880, Fitz 1878, v. Klecki 1896) überein. Pringsheim (1906) bezweifelt die Angaben dieser Autoren, daß 2 Sporen in einem Sporangium vorkommen, mit Unrecht; auch bei seinem Stamm kommen, wie ich zu wiederholten Malen beobachten konnte, Sporangien mit 2 reifen, wohlausgebildeten Sporen vor. Die Richtigkeit der Grimbertschen Angabe allerdings (1893), daß in einem Stäbchen bis 3 Sporen ausgebildet werden sollen, bezweifele ich ebenfalls sehr, die von Grimbert gegebenen Abbildungen sprechen auch direkt gegen seine Auffassung, denn die hier in den Stäbchen liegenden vermeintlichen Sporen sind ohne Frage weiter nichts, als die glänzenden Plasmaanhäufungen (Taf. I, Fig. 85—88), wie man sie öfters in den Stäbchen antrifft.

Der Formenreichtum der Sporangien war schon dem ersten Beobachter Trécul (1865) aufgefallen, der nach diesen Formen unterschied in Urocephalum (Kaulquappenform), echter Amylobacter (Zylinderform) und Clostridium (Spindelform). Andere Beobachter (Nylander

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1865, van Tieghem 1877—79, Prażmowski 1880) stellten dann bald fest, daß alle drei Zustände nebst Zwischenformen in ein und derselben Kultur auftreten können (s. a. Kap. VI).

d) Das Freiwerden der Spore aus dem Sporangium, die bleibende Sporangienmembran („Sporenkapsel“).

Einer der Hauptgründe, weshalb Winogradsky sein „Clostridium Pasteurianum“ als eine von den Buttersäurebakterien verschiedene Species ansah, war die von ihm beobachtete Tatsache, daß die Spore noch längere Zeit von den Resten der Sporangienmembran umgeben blieb. Er schreibt: „Wie man sieht, zeigt die Morphologie von Clostridium Pasteurianum einige interessante Eigentümlichkeiten, welche ihm den Charakter eines höchst differenzierten bakteriellen Organismus verleihen. Wenn auch zwischen ihm und verwandten Arten, wie Clostridium butyricum, Amylobacter- und Granulobacter-Arten bezüglich der Form und des Wachstums der jungen Stäbchen, der Verwandlung derselben in die Clostridienform, dem Auftreten der amyloiden Substanz innerhalb derselben, dem Sporenbildungsprozeß, soviel man urteilen kann, vollkommene Analogie zu herrschen scheint, so treten doch bei dem Sporenreifungsprozeß ganz charakteristische Besonderheiten hervor: die Differenzierung der Mutterzelle zu einer „Sporenkapsel“, die Oeffnung derselben, der Bau der Spore und der eigentümliche, durch diesen Bau bedingte Keimungsprozeß“.

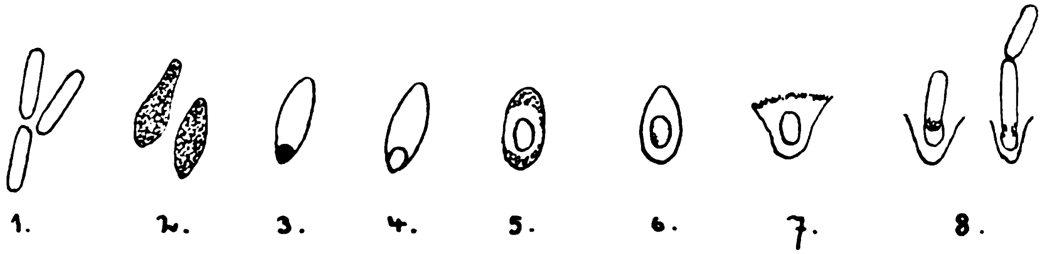


Fig. 11. Schema der Entwickelung des Bacillus amylobacter (nach Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. 1902).

Die Entstehung dieser „Sporenkapsel“ erklärte Winogradsky so: Die Sporenmutterzelle ist um die Spore herum vollständig mit einer hyalinen Substanz gefüllt. Durch das Aufquellen derselben wird die Membran der Mutterzelle an einem Pole gesprengt und weit geöffnet, die reife Spore „liegt jetzt in einem abgerundet dreieckigen Gallertpolsterchen, der „Sporenkapsel“, eingebettet, das an 2 Seiten scharfe und an der dritten, der Oeffnung, verwaschene Konturen zeigt“ (Fig. 11).

Uebrigens ist Winogradsky nicht der erste, der dieses teilweise Erhaltenbleiben der Sporangienmembran des Bac. amylobacter beobachtete. Schon Prażmowski bildet 1880 auf Taf. II, Fig. 4 C_x unter mehreren Keimungsstadien der Sporen seines Clostridium butyricum auch eines ab, bei dem man um die keimende Spore „die noch nicht aufgelöste Mutterzellenmembran der Spore“ sieht. Das dort gezeichnete Bild, welches ich in Tafel I als Fig. 37 wiedergebe, hat große Uebereinstimmung mit den Abbildungen, die Winogradsky später von den Keimungszuständen seines Clostridium Pasteurianum gibt.

Auch Gruber (1887) bemerkte, daß die Sporen seines Bac. amylobacter II „im freien Zustande von einer stark vergallerten Membran umgeben“ sind.

Nach Keutners (1904) Beobachtungen entstand die „Sporenkapsel“ durch ein Abbrechen des einen Zellendes. Seine diesbezüglichen Abbildungen sind in Tafel I, Fig. 84a—d wiedergegeben. Keutner läßt es dahingestellt, ob dies ein normaler Vorgang ist, oder ein durch die Kulturbedingungen — Rohkultur in stickstoffreier Nährlösung — hervorgerufener pathologischer.

Haselhoff und Bredemann unterscheiden ihre α, β, δ und ε bezeichneten Clostridien auch zum Teil mit nach dem Vorhandensein bezw. Fehlen dieser Reste der Sporangienmembran. Bei α und β waren dieselben meist vorhanden, bei letzterer Form sehr zart und nicht so deutlich hervortretend, wie bei der Form α, bei beiden Formen kamen auch Sporen ohne diese sogenannte Kapsel vor, bei δ und ε wurden sie nie beobachtet. Bezüglich der Entstehung findet sich beim Clostridium α die Bemerkung: „Die Spore wird anscheinend in der Art frei, daß die Sporangienmembran aufplatzt und die Reservestoffe entläßt, wobei dann ein Teil der Sporangienwand an der Spore hängen bleibt.“

Pringsheim gibt als besonderes Unterscheidungsmerkmal seines „Clostridium americanum“ von dem Winogradskyschen und dem Haselhoff und Bredemannschen Organismus das Fehlen einer „Sporenkapsel“ an.

Grassberger und Schattenfroh (1902) sahen in Präparaten ihrer „beweglichen Buttersäurebakterien“, die ja wahrscheinlich auch mit unserem Bac. amylobacter identisch sind, häufig Sporen, „die noch in den zerfallenden Stäbchen staken, oder noch aus dem einen offenen, wie zerfaserten Ende der von der Mutterzelle dargestellten Hülle hervorragen“.

Auch der die Wasserröste des Flachses erregende Störmersche Organismus, das „Plectridium pectinovorum“, der ebenfalls vielleicht mit unserem Bac. amylobacter identisch sein dürfte, besitzt nach K. Störmers Angabe (1904, p. 182) „Sporenkapseln“: „Die Sporen haben oftmals noch einen Teil der Membran des Stäbchens (etwa 3 μ lang) als Anhängsel, indessen handelt es sich hierbei nicht um eine ähnliche Kapsel, wie bei Clostridium Pasteurianum Winogradsky, denn es fehlt in der Mehrzahl der Fälle.“

Meine sehr zahlreichen Beobachtungen haben ergeben, daß alle diese von den verschiedenen Autoren beobachteten Erscheinungen wesentlich identisch sind. Ferner zeigte es sich, daß bei ein und demselben Stamme unter verschiedenen Kulturbedingungen und sogar unter gleichen Bedingungen diese Sporangienmembranreste, die als „Sporenkapsel“ bezeichnet worden sind, bei allen Individuen fehlen oder in mehr oder minder auffallendem Maße vorhanden sein können, so daß das Fehlen oder Vorkommen ebenso wie die Art des Aussehens der Sporangienmembranreste nicht als Unterscheidungsmerkmal zweier Stämme als zwei Species gelten darf.

Im allgemeinen beobachtete ich solche schöne „Sporenkapseln“, wie Winogradky und Haselhoff und Bredemann sie abbilden, bei meinen jetzigen Versuchen relativ selten. Am besten sind sie ausgebildet in stickstoffreier Nährlösung, einerlei ob in Rein- oder Rohkulturen, hier werden bei vielen Stämmen Sporangienmembranreste gefunden, wie sie in Fig. 18 u. 20, Tafel I abgebildet sind. Auf D-Agar sind die Reste meist weniger deutlich vorhanden, sie sehen dort allermeist so aus, wie es in Fig. 9—13, Tafel I abgebildet ist, also gleichsam wie Anhängsel an der Spore, auch der **Winogradsky**sche Originalstamm verhielt sich bei meinen Versuchen nicht anders. Bisweilen wurden auch Sporen gefunden, die in beiderseitig offenen Sporangienmembranresten steckten (Tafel I, Fig. 17). Auffällig ist, daß unter anscheinend gleichen Umständen die Reste der Sporangienmembran bei einigen Stämmen sehr weitgehend, bei anderen mäßig und bei anderen kaum merklich erhalten blieben. Beim **Pringsheim**schen Stamme blieben sie bei weitem nicht in dem Grade, wie z. B. beim **Winogradsky**schen, erhalten, aber unter Umständen wurden auch beim **Pringsheim**schen Stamme Sporen gefunden, die sich in nichts von denen des **Winogradsky**schen Stammes unterschieden. In Fig. 18, Tafel I ist eine solche abgebildet, wie sie z. B. neben gänzlich freien Sporen und solchen mit kleinem Anhängsel in reichlicher Anzahl nach 4-wöchentlicher Kultur in einer 2 Proz. Dextrose und 0,3 Proz. Pepton enthaltenden mineralischen Nährlösung bei 28° im offenen Röhrchen entstanden waren. Aehnlich wie der **Pringsheim**sche Stamm verhält sich der **Beijerinck**sche Stamm („**Granulobacter butylicum**“), bei dem die Sporangienmembranreste noch seltener erhalten bleiben, als beim **Pringsheim**schen, aber man findet sie auch hier. Umgekehrt ist es keine seltene Erscheinung, daß die Sporangienmembran auch bei solchen Stämmen, die im allgemeinen eine ziemlich deutliche „Kapsel“ besitzen, bisweilen völlig abgeworfen wird, so daß man dann vorwiegend nackte Sporen neben wenigen in den Sporangienmembranresten steckenden vorfindet. Auch Uebergänge kommen vor, indem man beide Formen nebeneinander findet, wie **Haselhoff** und **Bredemann** auch beschrieben haben.

Wenn so auch auf das Vorhandensein oder Fehlen dieser sogenannten Sporenkapsel kein großer Wert gelegt werden kann, so ist es doch selbstverständlich, daß für die Species die allgemeine Neigung zur längeren Erhaltung des die Spore berührenden Teiles der Sporangienmembran als Speciesdiagnostikum, wenn auch nicht als besonders wertvolles in Betracht kommt.

Woher es rührt, daß die Sporangienmembran unter Umständen abgeworfen wird, unter Umständen auch nicht, darüber ließ sich nichts feststellen, vielleicht ist das keine rein zufällige Erscheinung, denn wenn in einer Kultur eines im allgemeinen die Sporangienmembran ganz abwerfenden Stammes einmal Reste derselben erhalten blieben, war diese Erscheinung auch meist in derselben Kultur ganz allgemein ausgeprägt und umgekehrt. Sicher spielt die Zusammensetzung des Nährbodens eine Rolle. Auf günstigem Nährboden, der die Entwickelung sehr fördert, blieben die Sporangienmembranreste meist am längsten und deutlichsten vorhanden; z. B. wurde beim Stamm 56 Kamerun, dessen Sporen die Eigentümlichkeit besaßen, ganz in der später faltig zusammenfallenden Mutterzellmembran stecken zu bleiben (Fig. 19, Taf. I), die Beobachtung gemacht, daß diese Mutterzellmembran nur auf solchen Nährböden reichlich erhalten blieb, auf denen eine kräftige Entwickelung stattgefunden hatte (D-Agar, Mannitagar, Stärkeagar + N), während auf $^1/_3$ D-Agar, Stärkeagar ohne N und Bodenextraktagar[1]), auf welchen Nährböden die Entwickelung allerdings gering, die Sporenbildung aber gut ausgeprägt war, die Sporangienmembran entweder ganz oder doch zum allergrößten Teil abgeworfen wurde. Auffällig ist, daß auf D-Agar + 0,5 Proz. MgO (s.

---

1) Siehe a. p. 462, Entwickelung auf verschiedenen Nährböden.

p. 461) bei allen untersuchten Stämmen die Sporangienmembranen sehr gut erhalten blieben, auch die oben erwähnten Stämme, bei denen im allgemeinen die „Sporenkapsel" fehlte, zeigten diese auf genanntem Nährboden in sehr schöner Weise.

Was nun die Entstehung dieser „Kapsel" anbelangt, so konnte für die Winogradskysche Annahme, daß durch Aufquellung einer im Sporangium liegenden, die Spore umschließenden hyalinen Substanz die Sporangienwand zum Platzen gebracht würde und so diese charakteristische Form entstünde, kein direkter Beweis erbracht werden. Auf diese Weise könnte man sich übrigens auch nur aus einem sehr kurzen Sporangium die „Kapsel" entstanden denken, und diese kurzen Sporangien sind ziemlich selten. Dagegen konnte die Keutnersche Beobachtung, Abbrechen der sterilen Zellpartie, und die von Haselhoff und Bredemann gegebene Erklärung, allmähliches Auflösen der Membran und des Inhaltes, direkt öfters beobachtet werden. Letzterer Vorgang ist in Fig. 76, Tafel I wiedergegeben. Fig. 75 ist ein normales, kurz vor dem Zerfall begriffenes Sporangium derselben Kultur (Stamm 56. 8 Tage alte, bei 28° im offenen Röhrchen gehaltene Kultur in einer 2 Proz. Dextrose und 0,3 Proz. Pepton enthaltenden mineralischen Nährlösung). Man sieht bei Fig. 76, wie der nicht die Spore enthaltende Teil sich auflöst, indem Membran und Inhalt gleichzeitig nach und nach in Lösung gehen, während die die Spore umgebende Membranpartie nicht wesentlich angegriffen wird. In Fig. 78, 80—83, Tafel I sind „Sporenkapseln" abgebildet, die durch Abbrechen der sterilen Partie entstanden sind, vielleicht ist letzterer Vorgang bei denjenigen Sporangien, die reichlich Glykogen haben, vorzüglich ausgeprägt. Die in den Figuren dargestellten Sporen sind 65 Stunden alt (Stamm 76, D-Agar, 30°, 1 mg Sauerstoff im Liter), nach weiteren 48 Stunden war das Glykogen, welches jetzt noch in den Sporangienresten sitzt, verschwunden und man hatte die schönsten „Sporenkapseln" in der Art der Winogradskyschen Abbildungen vor sich.

e) Verhalten der Morphoden gegen Anilinfarbstoffe. Der Zellkern.

Als instruktive Färbung eignet sich vorzüglich Methylenblau 1 + 10 (1 Vol. gesättigte Methylenblaulösung in 95-proz. Alkohol, 9 Vol. Wasser). Die jungen Stäbe färben sich leicht und intensiv, bald treten in einem etwas älteren Stadium Zellsaftvakuolen deutlich hervor und noch etwas später wird die Färbung körnig, es ist dies das Stadium, in dem die Glykogeneinlagerung in den Zellsaftvakuolen beginnt. Sobald das zylindrische Stäbchen anfängt anzuschwellen, nimmt es Anilinfarbe schwerer auf. Betrachten wir z. B. eine ca. 48 Stunden alte Kultur (D-Agar, 28°, 1 mg Sauerstoff): ungefärbt sehen wir alle Morphoden, lebhaft schwärmende zylindrische, dünne Stäbe, dann anschwellende zylindrische Stäbe, bauchige Stäbe, meist ohne Spore, in einigen Fällen bemerkt man in ihnen die ersten Anlagen der Spore und einige enthalten endlich reife, glänzende Sporen in sich, alle diese Morphoden sind lebhaft beweglich. Färben wir mit Jod, so erhalten wir wieder alle Entwickelungsbilder: in den dünneren Stäben kein Glykogen, in älteren körniges, die bauchigen mit reichlicher Glykogeneinlagerung und polarem Fleck und die reifen Sporangien wieder mit körnigem Glykogen (s. u.). Färbt man lebend mit Methylenblau 1 + 10 und betrachtet das Präparat, mit Wachs um-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

randet, sofort, so färben sich die Oidien sofort intensiv, einige, die jüngsten, fast homogen, ältere mit Zellsaftvakuolen und noch ältere körnig. Zwischen diesen dunkelblau gefärbten Stäben sieht man die Sporangien bezw. die zu Sporangien anschwellenden Stäbe zuerst fast ungefärbt, höchstens hellblau mit deutlichen ungefärbten Glykogenmassen. Nach ca. 2 Minuten erst beginnt die Färbung intensiver zu werden, das Plasma zwischen den Glykogenmassen färbt sich dunkler, so daß letztere noch deutlicher hervortreten. Interessant ist das Verhalten der Sporenanlage. Ist dieselbe noch sehr jung, dann färbt sich nach ca. 2 Minuten an einem Pole ein Körnchen dunkelblau, dasselbe ist je nach dem Entwickelungsstadium größer oder kleiner, die kleineren meist ganz scharf, die größeren weniger scharf begrenzt (Tafel I, Fig. 39, 40). In einigen Fällen, in etwas älterem Materiale, konnten mit Methylenblaufärbung ganz vorzügliche Zellkernbilder erhalten werden, die genau denen entsprachen, wie sie **Arthur Meyer** bereits im Jahre 1897 für **Bac. asteroporus** und neuerdings (1908) für **Bac. amylobacter** mitteilte.

Ich beobachtete folgendes (siehe Tafel I, Fig. 38a—f): Nach ca. 2 Minuten war das junge Sporangium wie Fig. 38a gefärbt, hellblau, Zellsaftvakuolen undeutlich hervortretend, an einem Pole ungefärbt. Bald trat in diesem ungefärbten Teile (immer an demselben Individuum beobachtet) ein scharf begrenzter Punkt hervor (Fig. 38b), der Kern. Dieser Kern lag genau in der Mitte des ungefärbten Poles, in anderen Fällen lag er seitlich oder auch mehr zum Zentrum des Sporangiums zu. Diese Blaufärbung im ungefärbten Pole schritt allmählich vor, der Kern nahm eine dunklere, fast schwarzblaue Farbe an, bei einigen Individuen schien er mit dünnen Plasmafäden mit der Wandung in Verbindung zu stehen (Fig. 38c). In diesem Zustande sah das Bild aus, als ob sich an einem Ende eine große Vakuole befände, in welcher ein Kern an Plasmafäden aufgehängt ist. Daß aber die von Plasmafäden durchzogene Vakuole, in der der Kern liegt, nicht gewöhnlichen Zellsaft enthält, zeigt die jetzt fortschreitende Färbung: das Plasma des Sporangienleibes färbte sich allmählich dunkler, besonders dunkel wurde die Färbung an der Grenze des früher ungefärbten Poles (Fig. 38d). Diese Färbung schritt dort ziemlich schnell voran (immer an demselben Objekte beobachtet), so daß bald der früher anfänglich ungefärbte Teil, in dem der Kern liegt, eine schwarzblaue Färbung annahm (Fig. 38e), bis auf eine kleine Zone um den Kern selbst, die ungefärbt blieb, so daß also der Kern in diesem Stadium noch gut sichtbar war (Fig. 38e, f). Endlich, nach ca. 5 Min. erst war die Färbung ganz vollendet, ich hatte dann das Bild der Fig. 38f vor mir: an einem Pole eine schwarzblaue Partie, welche den ganzen Pol ausfüllt, in dieser eine hellere Zone und in dieser ganz deutlich hervortretend, ein schwarzblauer, fast runder, scharfbegrenzter Punkt, der Kern. Der übrige Teil des Sporangiums wurde weniger dunkel gefärbt, er enthält viele von Plasmasträngen umgebene, mit Glykogen gefüllte Vakuolen. Ich möchte noch bemerken, daß die hier beschriebenen Kernfärbungsbilder nicht etwa die Kombinationen von zufällig einmal gemachten Beobachtungen vorstellen. Der genaue Fortschritt der Färbung wurde an demselben Objekte beobachtet, und zwar nicht einmal, sondern beliebig oft in derselben Kultur.

In reifen Sporangien nimmt die mit einer Membran umgebene Spore die Färbung so gut wie nicht an. Die Färbung dieser reifen Sporangien ist etwas verschieden, entweder färbt sich das Innere desselben mit Ausnahme eines größeren Hofes um die Sporen (Tafel I, Fig. 41) etwas

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

körnig hellblau, oder auch der Hof um die Sporen ist nicht bemerkbar (Taf. I, Fig. 42, 43). Die freien Sporen nehmen Methylenblau 1 + 10 ebenfalls so gut wie gar nicht an, auch nicht beim Erwärmen. Die anhaftenden Reste der Sporangienmembran färben sich ganz zart, eine eventuell vorhandene Schleimmasse, welche dieselben um die Spore festhält, gar nicht.

f) Reservestoffe.

Als einzigen Reservestoff speichert unser Bac. amylobacter Glykogen und Iogen. Volutin konnte in keinem einzigen Falle und in keinem Entwickelungsstadium festgestellt werden. Normalerweise kommt sicher auch kein Fett vor.

Die Glykogen- und Iogenspeicherung des Bac. amylobacter ist bekanntlich eine auffällig starke und hat von jeher die besondere Aufmerksamkeit der Forscher seit Entdeckung dieses Bakteriums auf sich gelenkt, besonders wird es das Iogen sein, das den älteren Forschern aufgefallen ist, denn sie beschreiben alle die auffällige, der Stärke analoge Blaufärbung mit Jod, welcher Färbung der Bacillus ja auch seinen Namen B. amylobacter verdankt. Pasteur, welcher ihn zuerst entdeckte, gibt allerdings nicht an, daß sich sein Buttersäureferment mit Jod auffallend färbe, vielleicht hat er die Jodreaktion nicht benutzt. Trécul (1865) beschreibt dann zuerst diese „plantules amylifères“, welche später von Nylander (1865) wiedergefunden und für Bakterien angesprochen wurden, was von van Tieghem (1877) endgültig bestätigt wurde, der sie dann Bac. amylobacter nannte.

Die Art der Einlagerung und des Wiederverschwindens dieser Kohlenhydrate ist häufig beschrieben worden (van Tieghem, Prażmowski, Gruber, Beijerinck, Winogradsky, Grassberger und Schattenfroh u. a.). Ich kann mich daher sehr kurz fassen. Im allgemeinen ist das Bild, wie es gesunde, normal den Entwickelungsgang von Spore zu Spore durchmachende Individuen zeigen, folgendes: die dünnen Keimstäbchen färben sich mit Jod gleichmäßig gelb, in dickeren Stäbchen findet sich körnig verteiltes Glykogen bezw. Iogen oder Glykogen + Iogen, welche Kohlenhydrate allmählich gleichzeitig mit dem Dickerwerden der Stäbchen zunehmen und den ganzen Leib bis auf eine größere polare Stelle anfüllen und mit dem Heranreifen der Spore allmählich mehr oder weniger wieder verschwinden. Alle Abweichungen hiervon lassen auf irgendeinen die Entwickelung störenden Faktor schließen. So z. B. wurde beobachtet, daß in Stämmen, die infolge langer ungünstiger Kultur oder aus anderen Gründen noch nicht den normalen Entwickelungsgang von Spore zu Spore zeigten und mehr oder weniger zur Asporogenie neigten, bei jungen meist fädigen Stäben schon reichlich Glykogeneinlagerung stattfand, dasselbe lag dann nicht körnig im Plasma verteilt, sondern füllte streckenweise ganze Partieen bis auf mehr oder weniger große, gänzlich freie Strecken; solche Oidien sind am Ende ihrer Entwickelungsfähigkeit angelangt. Auch in Rohkulturen — stickstofffreie Nährlösung mit Erde — wurden solche Individuen reichlich gefunden, wie denn überhaupt die Speicherung in diesen Rohkulturen am unregelmäßigsten vor sich geht, meist ist sie dort stark übertrieben, so daß dicke, oft die normale Sporangienform besitzende, oft aber auch monströse Gebilde vorkommen (s. Fig. 1—8, Tafel II). Bisweilen wird auch im polaren Fleck oder sogar in der Spore selbst Glykogen abgelagert. Dies wurde zuerst von Grassberger und Schattenfroh beobachtet

(1902. p. 244; 1904. p. 24), sowohl an Roh- wie an Reinkulturen. Meine diesbezüglichen Beobachtungen erstrecken sich nur auf Rohkulturen (stickstoffreie Nährlösung mit Erde geimpft). Einige solcher Gebilde sind in Fig. 37a—f auf Taf. II abgebildet. Es scheint so, als ob nicht alle „Sporangien“, die in dem ungefärbten „sporogenen Teile“ einen Glykogenfleck eingelagert enthalten, wirklich zur Sporenbildung kommen. Ich fand neben solchen anormalen stets auch ganz normale mit gut ausgebildeten reifen Sporen, und in der älteren Kultur waren vorwiegend normale Sporen neben vereinzelten solchen mit Glykogeneinlagerung zu finden, während vorher bei den Sporangien das Verhältnis ein umgekehrtes gewesen war. Interessant ist es jedenfalls, daß auch in den Sporen Glykogen abgelagert werden kann, ungefärbt zeigen solche Sporen keinen Unterschied von den normalen, sie besitzen denselben Glanz, wir haben es also nicht etwa mit unvollkommenen, leeren Sporen zu tun, wie sie ja auch bisweilen erzeugt werden. Grassberger u. Schattenfroh halten diesen Zustand für krankhaft, leider haben auch sie keine Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit solcher Sporen mit Glykogeneinlagerung anstellen können, weil sie, ebenso wie bei meinen Fällen, immer mit normalen Sporen untermischt waren, sie haben zwar beobachtet (1904. p. 39; 1907. p. 44), daß einzelne derselben nicht gekeimt haben, ob sie jedoch alle keimungsunfähig sind, ist noch nicht bewiesen.

Die Reichhaltigkeit der Bilder, welche durch Färbung mit Jod entstehen, ist eine außerordentlich große. Es erübrigt wohl, dieselben nochmals hier eingehend zu beschreiben, zumal eine solche Beschreibusg ja auch nichts Neues bieten würde. Es können alle Stadien vorkommen: überreichliche Speicherung, gar keine Speicherung; gänzliches Wiederverschwinden bei der Sporenbildung oder gänzliches Erhaltenbleiben, je nachdem die Zelle bei der Sporenbildung weiter arbeitet oder nicht etc. etc.

Daß das Glykogen und Iogen bei unserer Species, wie überall bei den Bakterien, als Reservestoff dient, ist nach allem, was wir wissen, unzweifelhaft, gegenteilige Ansichten (Grassberger und Schattenfroh) brauchen wohl nicht bekämpft zu werden.

g) Mikrooidien (vergl. Taf. II, Fig. 32—36).

Mit diesem bereits hier wiederholt gebrauchten Namen bezeichnet Prof. Arthur Meyer die kurzen kokkenähnlichen Zerfallsprodukte, welche man in den Kulturen des Bac. amylobacter öfters beobachten kann. Diese kokkenartigen Zerfallsprodukte wurden bei Bac. amylobacter schon von Winogradsky (1902 p. 95) und auch von Haselhoff und Bredemann (1906 p. 402) beschrieben, sie kommen auch bei anderen Bakterienspecies vor, siehe z. B. Garbowski (1907). Ich bin bei den Untersuchungen über die Ursachen und die Art der Entstehung noch zu keinem abschließenden Resultat gekommen, die Untersuchungen werden jedoch fortgesetzt und sollen nach ihrem Abschluß mitgeteilt werden. Ich bitte deshalb, meine jetzigen Notizen nur als rein vorläufige Mitteilung ansehen zu wollen. Wir haben es bei dieser Mikrooidienbildung höchstwahrscheinlich mit einer weitgehendsten morphologischen Veränderung zu tun. Die Ursachen, welche dieser starken Veränderung zugrunde liegen können, scheinen sehr verschieden zu sein, jedenfalls hat es den Anschein, als ob in erster Linie nicht optimale Ernährung und nicht optimale Temperatur die Mikrooidienbildung sehr begünstigten. In solchen Nährlösungen z. B., denen keine Kreide zur Neutralisation der gebildeten Säuren zugesetzt wurde oder auch bei Kultivierung in einer von der optimalen stark nach oben oder unten zu abweichenden Temperatur wurden Mikrooidien meist sehr reichlich gebildet. Oft entstehen sie aber auch ohne irgendwelchen ersichtlichen Grund unter Kulturbedingungen, die der Species im allgemeinen sehr günstig sind, und zwar wurden sie dann besonders beobachtet, wenn die zur Aussaat benutzten Kulturen vor der Aussaat nicht erhitzt worden waren, allerdings können sie aber auch bei erhitzter Aussaat auftreten, und es ist schon früher erwähnt worden, welche Schwierigkeiten es wegen der Mikrooidien oft gemacht hat, unveränderte, d. h. kräftige, morphologisch normale Reinkulturen zu erhalten.

Was die Entstehung der Mikrooidien selbst anbelangt, so entstehen sie ohne Frage durch sehr reichliche und schnell erfolgende Querteilung der Oidien. Man sieht in solchen Kulturen, die in Mikrooidienbildung begriffen sind, sehr häufig Bilder, wie sie auf Taf. II in den Fig. 32 b, c, d, i; 33 a und b; 34, 35, 36 a, b, c wiedergegeben sind. In Fig. 33 b sieht man die durch die Querwände erzeugten sehr kurzen Glieder noch zusammenhängen, in den meisten Fällen runden sich die einzelnen kurzen Glieder schnell ab, bleiben aber oft noch zusammenhängen, so daß man perlschnurähnliche Gebilde erhält. Nicht selten erweckt es den Anschein, als erfolge die Teilung sogar nach 2 Richtungen im Raume (Fig. 33 a, 36 a, b, c), wie bei den Mikrokokken. Ob es sich hier wirklich um eine Längswand handelt, oder ob die Erscheinung durch Vakuolenbildung vorgetäuscht wurde, konnte noch nicht entschieden werden.

Daß solche Teilungen nach 2 Richtungen des Raumes bei der Gattung Bacillus vorkommen, wurde von Matzuschita (1902) behauptet, der an einem „proteusähnlichen Luftbacillus“ Quer- und Längsteilung beobachtet haben will, doch ist es noch fraglich, ob er nicht ebenfalls hellere Linien im Plasma für Membranen angesehen hat. Auch Garbowski (1907, p. 737) beobachtete am Bac. luteus gleichzeitig mit mir ähnliche Erscheinungen, wie ich am Bac. amylobacter, „eigentümliche, zu Reihen vereinigte kokkenartige Zerfallsformen, von 0,8—1,0 μ im Durchmesser und rosenkranzförmig in Reihen angeordnet, sahen diese Schnürchen — besonders bei Betrachtung mit einem schwächeren Systeme — täuschend den Streptococcus-Fäden ähnlich aus. Längs der Mittellinie der ganzen Reihe war ein heller Streifen sichtbar.“

Bisweilen hat man in den Kulturen Bilder, die direkt an Mikrokokken erinnern, 4 nebeneinanderliegende abgerundete Mikrooidien (Fig. 36 d bei *), doch könnten diese Bilder ebensogut durch zufälliges Aneinanderhaften von 4 Zellen entstanden sein.

Was die Speicherung von Reservestoffen in diesen Mikrooidien anbelangt, so sind die Zellen in den meisten Fällen frei von Glykogen, doch wurden öfters auch Kulturen beobachtet, in denen die Zellen zum Teil völlig, zum Teil teilweise mit Glykogen angefüllt waren (Fig. 34).

Mit dieser Aenderung der morphologischen Eigenschaften geht auch eine weitgehende Aenderung der physiologischen Eigenschaften einher: Soweit beobachtet wurde, rufen diese Mikrooidien in Nährlösung, in der sie sonst gut gediehen, keine Gärung mehr hervor, Säurebildung fand noch reichlich statt.

Als äußerst interessant möchte ich hier nur kurz die Tatsache erwähnen, daß diese Mikrooidien befähigt sind, sich als solche bei Ueberimpfung durch viele Generationen hindurch fortzupflanzen[1]). Wurde aus Mikrooidienkulturen auf neuen D-Agar übertragen, so entstanden wieder Mikrooidienkulturen, und zwar durch beliebig häufige Ueberimpfungen hindurch. Um einigermaßen sicher zu sein, daß die neuen Kolonieen nicht aus zufällig mitübertragenen Sporen oder gesunden Stäben hervorgegangen waren, wurden, da die Bemühungen, von unter dem Mikroskop herausgesuchten Einzelzellen auszugehen noch zu keinem Resultat geführt haben, mit den Mikrooidienkulturen Platten gegossen. Es entstanden bald die typischen, von den normalen Kolonieen leicht unterscheidbaren Mikrooidienkolonieen (s. p. 391), und zwar ausschließlich — nur in einem Falle bei zahlreichen Versuchen wuchs einmal eine aus normalen Morphoden bestehende Kultur heran, wahrscheinlich aus einer mitübertragenen Spore hervorgegangen —. Wurde nun von diesen Mikrooidienkolonieen auf D-Agar oder in Nährlösung I abgeimpft, so entwickelten sich auf diesen Nährböden die Mikrooidien ganz ruhig weiter, und zwar ausschließlich als solche.

Was nun das Eigenartigste an diesen Mikrooidien ist, ist das, daß sie auch bei völligem Luftzutritt gedeihen. Das Minimum der Sauerstoffspannung für das Wachstum habe ich noch nicht bestimmt, vermutlich fehlt es ebenso wie bei den Normalformen (s. p. 458), da sich auch die Mikrooidien bei 1 mg Sauerstoff völlig normal alssolche weiter entwickelten. Das Maximum dagegen, das für die Normalformen bei annähernd 30 mg liegt, liegt für die Mikrooidien über 276 mg! Genauer bestimmt wurde es ebenfalls noch nicht, doch gediehen die Mikrooidien, wie erwähnt, bei ungehindertem Luftzutritt auf D-Agar sehr gut, und zwar durch beliebige Ueberimpfungen hindurch.

Diese Beobachtungen, daß es gleichsam gelingt, einen streng anaëroben sporenbildenden, lebhafte Gärungserscheinungen hervorrufenden Bacillus in einen aëroben, nicht sporenbildenden und nicht gärenden Coccus zu verwandeln, erschien so überraschend, daß der Verdacht, die Kultur sei durch Kokken verunreingt gewesen, auf der Hand liegt. Ich möchte jedoch ganz besonders hervorheben, daß ich mich von der absoluten Richtigkeit dieser Erscheinungen an ganz einwandsfreien Reinkulturen wiederholt überzeugt habe. Die Mikrooidien konnten außerden nicht nur an einem Stamme beobachtet werden, sondern alle Stämme, soweit ich sie daraufhin untersuchte, zeigten diese Erscheinungen in ganz gleicher Weise (Stamm 56: Kamerun, 92: Kiautschou, A: „Clostridium Pasteurianum“, B: „Clostridium americanum“, C: „Clostridium α“, D: „Clostridium β“, E: „Bac. amylobacter I Gruber“, F: Bac. saccharobutyricus“, G: „Gasphlegmone“ und J: „Granulobacter pectinovorum“.)

Nähere Untersuchungen werden Aufschluß über diese interessanten und wichtigen Fragen geben. Bemerkt sei noch, daß es mir bislang noch nicht gelungen ist, die Mikrooidien wieder in die Normalform zurückzuführen.

---

[1]) Winogradsky (1902) schrieb von den kokkenartigen Gebilden, „welche, soviel ich weiß, nicht mehr entwickelungsfähig sind“, auch nach Haselhoff und Bredemann (1906) sind sie „nicht weiter entwickelungsfähig, auch nicht, wenn man sie wieder in das Vakuum zurückbringt“. Diese Angaben müssen demnach berichtigt werden.

2. Annähernde Bestimmung des Minimums, Maximums und Optimums der Temperatur.

(Entwickelung bei verschiedenen Temperaturen, Einfluß des Abkochens der Sporen.)

Auch diese Versuche wurden wieder zu dem doppelten Zweck angestellt, einmal die verschiedenen Stämme untereinander zu vergleichen und dann auch das Temperaturmaximum, -minimum und -optimum annähernd festzustellen. Ferner sollte bei dieser Gelegenheit der Einfluß des vor der Aussaat stattfindenden kurzen Erhitzens der Sporen auf 80° C geprüft werden, und gleichzeitig wurden bei einigen Stämmen eventuell statthabende Beeinflussungen der Entwickelung bei höheren Temperaturen durch verschiedene Nährböden (normaler D-Agar und $^1/_8$ D-Agar[1]) untersucht. Alle Versuche wurden bei einer Sauerstoffkonzentration, die 1 mg Sauerstoff im Liter entsprach, ausgeführt, und zwar wurden immer 3 Parallelreihen bei 15°, 30° und 40° C gehalten. Die Impfung dieser Parallelreihen geschah selbstverständlich immer mit gleichem Sporenmaterial. Dasselbe wurde in sterilem Wasser verteilt und nach vorherigem 5 Minuten langem Erhitzen auf 80° C oder auch ohne Erhitzen von diesem auf die verschiedenen Röhrchen übertragen.

Die beobachteten makroskopischen und mikroskopischen Erscheinungen sind folgende.

1. Stamm 127 (aus Reismehl).

a) **15° C:** unabgekocht. Keimung begann nach ca. 5 Tagen, nach 5 Tagen waren neben zum Teil noch unveränderten Sporen und einigen Keimungsstadien relativ viele Schwärmer vorhanden. Nach 7 Tagen wurden alle Morphoden gefunden, auch schon vereinzelte freie Sporen, nach 12 Tagen vorwiegend freie Sporen.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Keimung begann zwischen dem 6. und 7. Tag. Nach 7 Tagen waren neben einigen noch ungekeimten Sporen vorwiegend zylindrische Stäbe vorhanden, auch einige angeschwollene; nach 9 Tagen wurden vereinzelte freie Sporen neben allen anderen Morphoden gefunden. Nach 12 Tagen waren neben vorwiegend Sporen noch alle anderen Entwickelungsstadien relativ häufig vertreten.

b) **30° C:** unabgekocht. Nach 16 Stunden hatten alle Sporen gekeimt, es war eine dünne, aus kleinen plumpen Schwärmern bestehende Kultur vorhanden. Nach 42 Stunden waren reife Sporangien ziemlich reichlich ausgebildet, nach 76 Stunden bestand die Kultur aus vorwiegend freien Sporen.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Nach 16 Stunden war makroskopisch nichts sichtbar, neben meist unveränderten Sporen wurden einige in Keimung begriffene und vereinzelte Schwärmer beobachtet. Nach 65 Stunden kamen alle Morphoden vor, auch freie Sporen.

c) **40° C:** unabgekocht. Nach 16 Stunden war eine dünne, meist aus Schwärmern bestehende Kultur vorhanden, in den Schwärmern vielfach lichtbrechende Inhaltskörper (s. u.). Auch noch ungekeimte Sporen. Nach 42 Stunden waren Oidien, Sporangien und Sporen vertreten, in ersteren oft große lichtbrechende Inhaltskörper (vergl. Taf. I, Fig. 85—88).

5 Minuten auf 80° C erhitzt. a) Normaler D-Agar. Nach 16 Stunden makroskopisch nichts sichtbar, mikroskopisch neben glänzenden Sporen auch solche in Keimung, ferner lebhafte Schwärmer, länger als die bei 30° C. Nach 42 Stunden fast nur Stäbe und Fäden, oft auch Ketten, nach 65 Stunden meist Stäbe und Fäden, vereinzelte Sporangien und freie Sporen. Nach 5 Tagen noch fast unverändert, meist Stäbe und Ketten, einige Sporangien und freie Sporen, diese oft matt, krankhaft. Nach 7 Tagen ebenso.

b) $^1/_8$ D-Agar. Keimung begann erst nach ca. 42 Stunden, die ersten Sporen traten erst nach 5 Tagen auf, sonst genau wie auf D-Agar.

2. Stamm E („Bac. amylobacter I Gruber").

a) **15° C:** unabgekocht. Am 5. Tage war noch nichts sichtbar, am 7. Tage waren auf dem Agar sehr winzige Kolonieen, sie bestanden fast nur aus Mikrooidien, ferner kamen einige kurze normale Stäbe vor, einige von diesen waren aber ebenfalls in Zerfall begriffen; nach 9 Tagen waren kleine diffuse Kolonieen bemerkbar, dieselben bestanden ausschließlich aus Mikrooidien.

---

[1] Siehe p. 461.

b) **30° C:** unabgekocht. Nach 16 Stunden auf dem Agar meist aus lebhaften Schwärmern bestehender Belag; vereinzelt noch ungekeimte Sporen. Nach 42 Stunden kommen alle Morphoden vor, vorwiegend reife Sporangien, freie Sporen nicht selten.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Nach 16 Stunden neben Schwärmern noch relativ viele ungekeimte Sporen, Sporenkeimung häufig, nach 65 Stunden alle Morphoden, meist reife Sporangien und Sporen.

c) **40° C:** unabgekocht. Nach 16 Stunden dünne Kolonie. Keine ungekeimten Sporen mehr. Oidien unbeweglich, meist recht lang, oft gegliederte kürzere oder längere Fäden. Stets die lichtbrechenden Inhaltskörper. Oidien streckenweise oder ganz mit Glykogen gefüllt. Nach 42 Stunden fanden sich ferner einige keulig geschwollene Stäbe vor, die aber keine Spore enthielten. Viele Stäbe begannen in Mikrooidien zu zerfallen, freie Mikrooidien verschiedener Größe waren nicht selten. Im Laufe der nächsten Tage nahm der Mikrooidienzerfall zu, nach 9 Tagen bestand die Kultur aus zum Teil sehr langen, dünnen, gewundenen Stäben, oft Schwellformen, und ferner aus vielen Mikrooidien verschiedener Größe; die großen sind, ebenso wie die Schwellformen der Oidien und wie einige Oidien mit Glykogen fast völlig angefüllt.

Bei einer Wiederholung dieses Versuches mit unabgekochtem Sporenmateriale traten keine Mikrooidien auf; nach 6 Tagen waren lange Stäbe und Fäden mit stark lichtbrechenden Inhaltskörpern vorhanden, ganz vereinzelt auch reife Sporangien, nach 12 Tagen kamen auch freie Sporen vor.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Nach 16 Stunden neben ungekeimten Sporen und Keimungsstadien meist sehr lange fadenförmige unbewegliche Oidien, die oft in Ketten bis ca. 15 Gliedern zusammenhängen; nach 65 Stunden fast ebenso, dann einige Sporangien, die die Spore ganz endständig ausbildeten.

3. Stamm C („Clostridium α" Haselhoff et Bredemann).

a) **15° C:** unabgekocht. Nach 5 Tagen war noch nichts entwickelt, bereits nach 7 Tagen kamen alle Morphoden vor, vereinzelt freie Sporen, daneben noch alle anderen Stadien.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Nach 12 Tagen war noch nichts entwickelt. Nach 17 Tagen waren alle Morphoden mit Ausnahme der freien Sporen vorhanden, die ersten freien Sporen entstanden erst zwischen 19 und 21 Tagen.

b) **30° C:** unabgekocht. Nach 17 Stunden noch nichts entwickelt, nach 42 Stunden dünne Kultur, meist kurze Schwärmer, ferner noch relativ viele ungekeimte Sporen. Nach 76 Stunden alle Morphoden, Oidien und Sporangien lebhaft schwärmend.

5 Minuten auf 80° C erhitzt. Nach 76 Stunden noch nichts entwickelt. Nach 5 Tagen war eine kräftige Kultur vorhanden, dieselbe bestand aus allen Morphoden, vorwiegend freien Sporen.

c) **40° C:** unabgekocht. Nach 17 Stunden war im Kondenswasser lebhafte Entwickelung vorhanden, es fanden sich neben vielen ungekeimten Sporen einige kurze plumpe Schwärmer; auch nach 42 Stunden kamen noch ungekeimte Sporen vor, daneben unbewegliche Stäbe von sehr verschiedener Länge, kurz bis fadenförmig, oft Ketten, nach 76 Stunden war das Bild unverändert, in den Oidien wurden auch hier die stark lichtbrechenden Inhaltskörper gefunden. Nach 5 Tagen traten einige Sporangien auf, auch freie Sporen waren vorhanden, nach 9 Tagen waren immer noch erst wenige freie Sporen ausgebildet, vorwiegend bestand die Kultur aus Oidien.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Bei einem Versuch war nach 21 Tagen noch keine Keimung eingetreten, obgleich die übrigen mit demselben Materiale beimpften Röhrchen sich alle entwickelt hatten (siehe vorstehend). Bei einer Wiederholung waren nach 6 Tagen noch unveränderte glänzende Sporen vorhanden, nach 12 Tagen war eine kräftige Kultur entwickelt, dieselbe bestand aus sehr verschieden langen Stäben mit stark lichtbrechenden Inhaltskörpern, ferner kamen auch Sporangien von ausgeprägter Köpfchenform vor, die Sporen in ihnen vielfach krank, matt, auch die freien Sporen ebenso.

4. Stamm D („Clostrid. β" Haselhoff et Bredemann).

a) **15° C:** unabgekocht. Die Keimung begann erst nach ca. 4 Tagen, es waren nach 5 Tagen neben vereinzelt noch ungekeimten Sporen meist Schwärmer und Ruheoidien vorhanden; nach 9 Tagen kamen neben Schwärmern auch bereits freie Sporen vor.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Beginn der Keimung nach 12 Tagen, nach 17 Tagen kamen alle Morphoden vor, vorwiegend waren Sporangien neben einigen freien Sporen vorhanden.

b) **30° C:** unabgekocht. Nach 17 Stunden auf dem Agar noch nichts sichtbar, im Kondenswasser fanden sich neben ungekeimten und in Keimung begriffenen Sporen viele Schwärmer, einzeln oder in kurzen Ketten, nach 42 Stunden waren vorwiegend reife Sporangien, nach 76 Stunden fast nur Sporen vorhanden.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 17 Stunden war noch nichts gewachsen, nach 42 Stunden bestand die dünne Kultur meist aus Schwärmern, bisweilen kamen noch ungekeimte Sporen vor, schon nach 76 Stunden waren fast ausschließlich reife Sporen neben Sporangien vorhanden.

c) **40° C**: unabgekocht. Nach 17 Stunden war noch nichts gewachsen, nach 42 Stunden war eine dünne Kultur vorhanden, bestehend aus sehr verschieden langen Oidien, nach 76 Stunden kamen vorwiegend freie Sporen vor neben allen anderen Morphoden.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Beim ersten Versuche war nach 17 Tagen noch nichts entwickelt, obgleich in allen Parallelreihen Keimung desselben Sporenmaterials eingetreten war (siehe vorstehend). Bei einem zweiten Versuche trat Entwickelung ein, nach 20 Stunden war noch alles unverändert, nach 48 Stunden fanden sich neben relativ vielen noch ungekeimten Sporen viele ziemlich lange Stäbe mit stark lichtbrechenden Inhaltskörpern. Nach 6 Tagen kamen ziemlich reichlich freie Sporen vor, daneben alle anderen Morphoden, die Stäbe im allgemeinen krankhaft aussehend, mit dicken Inhaltskörpern. Nach 12 Tagen war das Bild noch unverändert.

5. Stamm F („B. saccharobutyric." v. Klecki).

a) **15° C**: unabgekocht. Nach 65 Stunden war das Kondenswasser getrübt, auf dem Agar nichts sichtbar; im Kondenswasser neben ungekeimten Sporen viele Mikrooidien, meist zu zweien, in der Mitte eingeschnürt; nach 5 Tagen kamen fast ausschließlich Mikrooidien vor, ganz vereinzelt auch Fäden, nach 4 Wochen war das Bild unverändert.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 65 Stunden war noch nichts gewachsen, nach 5 Tagen fanden sich viele lebhaft bewegliche, zylindrische und angeschwollene Stäbe, nach 8 Tagen auch viele freie Sporen vor.

b) **30° C**: unabgekocht. Nach 17 Stunden war ein dünner Belag entstanden, derselbe bestand nur aus Mikrooidien, auch nach 5 Tagen waren ausschließlich diese Mikrooidien vorhanden.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 17 Stunden hatte noch keine Keimung stattgefunden, nach 41 Stunden waren auf dem Agar Stäbe von sehr verschiedener Länge entstanden, meist normale zylindrische, einige bereits geschwollen, einige lange Fäden und vereinzelt auch Mikrooidien. Letztere wurden bald unterdrückt, die Kultur entwickelte sich normal weiter, nach 5 Tagen bestand sie fast ausschließlich aus Sporen.

c) **40° C**: unabgekocht. Nach 17 Stunden ein dünner, ausschließlich aus Mikrooidien bestehender Belag, nach 41 Stunden kamen vereinzelte normale Stäbe vor, meist Mikrooidien, einige der Stäbe rosenkranzartig eingeschnürt, nach 6 Tagen ausschließlich Mikrooidien.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 17 Stunden noch nicht verändert, nach 41 Stunden fast ausschließlich kurze plumpe Stäbe mit lichtbrechenden Inhaltskörpern, nach 6 Tagen ziemlich viele freie Sporen.

6. Stamm G („Gasphlegmone").

a) **15° C**: unabgekocht. Nach 46 Stunden fanden sich neben meist unveränderten glänzenden Sporen einige etwas geschwollene, matte, kurz vor der Keimung stehende, nach 94 Stunden war auf dem Agar ein dünner, vorwiegend aus zylindrischen Stäbchen bestehender Belag vorhanden, einige der Stäbchen waren im Anschwellen begriffen, alles beweglich, nach 7 Tagen waren alle Morphoden vorhanden, nach 12 Tagen ebenso, etwas reichlicher Sporen, Sporangien auffallend kugelig rund (s. Taf. I, Fig. 66—74).

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 94 Stunden noch keine Keimung, nach 7 Tagen vorwiegend angeschwollene Stäbe, nach 12 Tagen alle Morphoden, Sporangien ebenfalls auffallend kugelig.

b) **30° C**: unabgekocht. Nach 18 Stunden nur kurze, plumpe Stäbe, nach 42 Stunden vorwiegend reife Sporangien, nach 95 Stunden fast nur Sporen.

c) **40° C**: unabgekocht. Nach 40 Stunden lebhafte, völlig normale Stäbe, nach 90 Stunden meist Oidien mit großen glänzenden Inhaltskörpern an den Polen, ferner einige Sporangien, zum Teil mit gut ausgebildeten Sporen, zum Teil mit krankhaften, matten Sporen, auch einige teils normale, teils matte glänzende Sporen, nach 8 Tagen genau so.

5 Minuten auf 80° erhitzt.

α) Normaler D-Agar. Nach 40 Stunden noch keine Keimung, nach 90 Stunden ziemlich kräftige Kultur aus vorwiegend Oidien, auch Sporangien mit reifen, normalen

Sporen, zum Teil auch reife, glänzende Sporen, nach 8 Tagen kamen in den noch vorhandenen Oidien reichlich die stark lichtbrechenden Inhaltskörper vor, nach 10 Tagen ebenso.

β) $^1/_3$ **D-Agar.** Nach 90 Stunden schwollen einige Sporen an und wurden matt, nach 8 Tagen kamen neben noch ungekeimten Sporen meist lange, oft gewundene, etwas krankhaft aussehende, unbewegliche Stäbe vor, nach 10 Tagen waren auch Sporangien ausgebildet, die die Sporen entweder in einer polaren Anschwellung trugen oder auch ganz am Pole ohne Anschwellung, vereinzelt auch normale freie Sporen.

7. Stamm H („Granulob. butylic." Beijerinck).

a) **15° C: unabgekocht.** Nach 46 Stunden begann bereits die Keimung, es fanden sich neben ungekeimten und keimenden Sporen lebhafte Schwärmer vor, nach 94 Stunden begannen dieselben anzuschwellen, nach 7 Tagen waren auch einige reife Sporangien und nach 12 Tagen einige freie Sporen vorhanden, in der Mehrzahl allerdings noch Oidien.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 94 Stunden noch keine Keimung, nach 7 Tagen meist lebhafte Schwärmer, einige geschwollen, nach 12 Tagen neben sehr vielen Stäben auch vereinzelte Sporangien und einige freie Sporen.

b) **30° C: unabgekocht.** Nach 18 Stunden vereinzelte noch ungekeimte Sporen, meist lebhafte, plumpe Schwärmer, dünne Kultur. Nach 42 Stunden sehr dicke Kultur, vorwiegend aus Sporangien, auch einige freie Sporen, nach 95 Stunden fast ausschließlich Sporen.

5 Minuten auf 80° erhitzt. Nach 18 Stunden makroskopisch nichts sichtbar, mikroskopisch im Kondenswasser neben vielen noch ungekeimten Sporen sehr lebhafte Schwärmer, nach 42 und 95 Stunden genau wie die unabgekochte Kultur.

c) **40° C: unabgekocht.** Nach 40 Stunden kräftige Kultur, vorwiegend normale zylindrische und geschwollene, lebhaft bewegliche Oidien, nach 90 Stunden nur reife, freie Sporen.

5 Minuten auf 80° erhitzt.

α) **Normaler D-Agar.** Nach 40 Stunden ähnlich wie bei der unabgekochten Kultur, etwas später gekeimt, da angeschwollene Stäbe noch nicht vorhanden. Nach 90 Stunden vorwiegend Sporangien neben freien Sporen.

β) $^1/_3$ **D-Agar.** Ebenso, nur im Entwickelungsstadium anscheinend etwas zurück.

Diese Beobachtungen sind sehr interessant. Zuerst geht aus ihnen wieder eine allgemeine Uebereinstimmung aller Stämme mit Deutlichkeit hervor. Kein einziger von den untersuchten Stämmen zeigte prinzipielle Abweichungen. Denn es zeigte sich, daß, wenn auch bei vielen Abweichungen zwischen den verschiedenen Stämmen beobachtet wurden, daß dann diese nicht größere waren, als die Verschiedenheiten, die bei Benutzung ein und desselben Stammes zu verschiedenen Versuchen zu konstatieren waren. Man vergleiche z. B. Stamm C („Clostr. α") und D („Clostr. β"). Bei beiden trat beim erhitzten Sporenmaterial bei 40° keine Keimung ein, obwohl dasselbe Material bei 30° und 15° sich normal entwickelte. Dieses negative Ergebnis mit den erhitzten Sporen bei 40° wäre eine ziemlich erhebliche Abweichung von den übrigen Stämmen, die unter den genannten Verhältnissen ganz gut keimten, gewesen. Bei Wiederholung des Versuches keimten jedoch Stamm C und D auch und verhielten sich so nicht anders wie die übrigen.

Das genaue Maximum und Minimum der Temperatur ist durch diese Versuche nicht festgesetzt worden. Das Maximum scheint nicht erheblich über 40° zu liegen, denn im allgemeinen schien diese Temperatur einen ungünstigen Einfluß auszuüben, besonders auf die Sporenbildung, wie denn überhaupt der Sporenbildungsprozeß als derjenige bekannt ist, der am meisten von äußeren Verhältnissen abhängt. Auch das Minimum dürfte nicht erheblich unter 15° liegen, vielleicht bei 8°, soviel man aus der sehr verlangsamten Keimung bei 15° schließen kann.

Als Optimum erwies sich für alle unsere Stämme die Temperatur von 30° [1]), wenn auch äußerlich bei 40° bisweilen die Intensität der Sporenbildung eine gleich gute war, so konnte man doch bei aufmerksamer Beobachtung an solchen bei höherer Temperatur wachsenden Kulturen Anzeichen bemerken, die darauf hindeuten, daß diese Temperatur nicht die optimale ist, ich mache nur aufmerksam auf die starke Neigung zur Fadenbildung. Vielleicht ist hier eine Angabe Grassbergers und Schattenfrohs (1902) über den „beweglichen Buttersäurebacillus", der, wie schon öfter erwähnt, vielleicht auch zum Bac. amylobacter gehören dürfte, den ich aber nicht mituntersucht habe, zu erwähnen. Die üppigste Vermehrung desselben und kräftigste Gärung findet bei 37° statt, auch bei 10° ist das Wachstum noch gut, nur verlangsamt. Daß sich aber die Bruttemperatur nicht als günstigste erweist, scheint mir daraus hervorzugehen, daß nach den Angaben genannter Autoren die bei dieser Temperatur rasch und üppig wachsenden Generationen oft schon nach wenigen Tagen zugrunde gingen, während die bei niedriger Temperatur langsam angewachsenen Kulturen lange übertragbar blieben.

Es ist die Vermutung ausgesprochen (Pringsheim), daß die Temperaturoptima der aus Erden verschiedener Breiten gezüchteten Stämme den Temperaturen der Ursprungsorte angepaßt wären. Die oben gegen die verschiedenen Temperaturen untersuchten Stämme sind zufälligerweise alle aus einheimischer Erde etc. gezüchtet. Ich habe aber bei meinen übrigen, aus den verschiedensten Breiten stammenden Kulturen nie eine Beziehung des Temperaturoptimums zum Klima der Ursprungslandes bemerkt, für alle erwies sich die Temperatur von ca. 30° als am vorteilhaftesten.

Betrachten wir noch kurz einige Einzelheiten, die sich bei obigen Versuchen herausgestellt haben.

Als besonders auffällig tritt uns der große Einfluß des Erhitzens bezw. Nichterhitzens der Sporen vor der Aussaat entgegen. In allen Fällen wird durch das Erhitzen die Keimung verzögert. Diese Verzögerung ist bei den verschiedenen Versuchen verschieden stark, bei der Optimaltemperatur von 30° beträgt sie meist nur wenige Stunden (Stamm 127, E, D, H), sie kann aber auch einen (Stamm F) bis mehrere Tage (Stamm C) betragen, letzterer Fall kommt nur ausnahmsweise vor, denn im allgemeinen tritt die Keimung der 5 Minuten auf 80° erhitzten Sporen auf D-Agar bei 30° bereits nach annähernd 10 Stunden ein, beim nicht erhitzten Materiale nach ungefähr 5 Stunden. Annähernd ebenso liegen die Verhältnisse bei 40°, die beiden Fälle, in denen die erhitzten Sporen bei 40° überhaupt nicht keimten (Stamm C und D) sind scheinbar rein zufällige, denn im Wiederholungsfalle trat bei beiden Stämmen Keimung ein, in einem Falle betrug die Verzögerung (C) mehrere Tage, im anderen nur einige Stunden. Erheblich größer ist die durch das Abkochen der Sporen veranlaßte Verzögerung in der Keimung bei der Kultivierungstemperatur von 15°. Hier betrug sie bei fast allen Versuchen mehrere Tage (2—10 Tage). Die Keimung der unabgekochten Sporen bei 15° tritt bei allen untersuchten Stämmen nach 4—5 Tagen ein (Stamm H begann nach 2 Tagen zu keimen), die der 5 Minuten auf 80° erhitzten Sporen im allgemeinen ca. 3 Tage später.

---

[1] Pringsheim gibt als Optimum für die Gärung seines Clostrid. americanum (unseres Stammes B) ca. 35° an, bei 18° ist nach ihm die Gärung schwach, bei 45° wird sie noch nicht gehemmt.

Ein anderer direkt bemerkbarer benachteiligender Einfluß des Abkochens tritt nicht hervor, die Schwärmfähigkeit der Oidien und Sporangien ist dieselbe wie die bei aus nicht erhitztem Materiale hervorgegangenen Individuen, auch die Schnelligkeit des Entwickelungsganges von Spore zu Spore ist dieselbe. Der Sporenbildungsprozeß vollzieht sich in allen Fällen bei geeigneter Temperatur immer sehr schnell, während man bei 30° z. B. nach 17 Stunden neben vereinzelten noch ungekeimten Sporen lebhaft bewegliche Oidien findet, kommen 24 Stunden später fast ausschließlich reife Sporangien und auch bereits einige freie Sporen vor.

Noch ein weiterer Einfluß des Abkochens der Sporen ist aus diesen Versuchen zu ersehen. Es ist früher schon erwähnt worden, daß ich trotz der Verzögerung in der Keimung der Sporen doch vor jedesmaligem Ueberimpfen ein Erhitzen der Sporen vornahm, um dadurch zur Nichtsporenbildung neigende Varianten auszuschalten und das Auftreten der Mikrooidien zu verhindern.

Betrachten wir hier den Stamm F (B. saccharobutyr.) und G (Gasphlegmone), so sehen wir diesen Einfluß sehr schön: die erhitzten Sporen haben eine normale Vegetation erzeugt, aus den nicht erhitzten ist in allen Fällen (außer bei Stamm G bei 30°) eine Mikrooidienvegetation hervorgegangen, die anfänglich auch normale Individuen enthielt, welch letztere jedoch auch bald dem Zerfall in Mikrooidien unterlagen oder von diesen unterdrückt wurden, während umgekehrt (Stamm F bei 30°) die aus erhitztem Sporenmateriale entstehenden Mikrooidien schnell von den normalen Individuen unterdrückt wurden und nicht zur Weiterentwickelung kamen.

Diese Erscheinung ist wohl so zu erklären, daß im allgemeinen die aus erhitzten Sporen hervorgehenden Keimstäbe geringere Neigung zur Mikrooidienbildung besitzen, als die Oidien der nicht erhitzten Sporen und daß dann die sich normal weiter entwickelten Oidien die zur Mikrooidienbildung neigenden überwuchern und unterdrücken, bez. umgekehrt.

Was nun die spezielle Entwickelung bei den verschiedenen Temperaturen anbelangt, so ist folgendes zu bemerken:

1) 15° C. Der ganze Entwickelungszyklus ist normal, nur verlangsamt. Die Sporenbildung findet ebensogut und ebenso reichlich statt, wie bei der Optimaltemperatur von 30° C. Anormale etwa durch die niedrigere Temperatur bedingte Formen treten nie auf.

2) 30° C. Optimaltemperatur mit völlig normalem Entwickelungsgang von Spore zu Spore und normaler Ausbildung aller Morphoden.

3) 40° C. Bei den meisten Stämmen trat eine entschiedene Schädigung zutage. Die Oidien neigen fast stets zur Fadenbildung. Auffällig ist das Auftreten stark lichtbrechender Körnchen[1]) in den Oidien, das bei allen Stämmen in gleicher Weise ausgeprägt war. Die Sporenbildung war bei einigen Stämmen unbeeinflußt, bei anderen war sie stark (Stamm E), bei anderen weniger stark (Stamm C und 127) gehemmt (matte Sporen neben normalen glänzenden). Anormale Formen, gewundene Stäbe, eigenartige Sporangien finden sich häufig.

Was endlich die bei der Temperatur von 40° C benutzten Nährböden — normaler D-Agar und $1/3$ D-Agar — anbelangt, so ist bei allen 3 Stämmen, bei denen diese versucht wurden (127, H, G) zu beobachten, daß auf $1/3$ D-Agar die Keimung langsamer eintritt und infolgedessen die Vegetation langsamer zum Abschluß kommt, als auf normalem D-Agar. Ein sonstiger Unterschied zwischen beiden Nährböden trat nicht hervor.

---

1) Vergl. Taf. I, Fig. 85—88. Ueber die Natur dieser Körnchen kann ich bis jetzt keine Aussagen machen.

3. Bestimmung des Maximums, Minimums und Optimums der Sauerstoffspannung.

a) Maximum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung.

Zu allen Versuchen wurde 5 Minuten auf 80° C erhitztes Sporenmaterial verwendet. Als Nährboden diente D-Agar. Die Temperatur betrug, wenn nichts anderes bemerkt, stets 28° C. Ueber Messung und Berechnung des Sauerstoffgehaltes s. Kap. II, Methodisches.

Als sehr störend bei den Versuchen, welche bei nicht sehr starker Luftverdünnung ausgeführt wurden, erwies sich anfangs der Umstand, daß in dem wasserdampfgesättigten Raume des Kulturvakuums leicht ein Eindringen von Pilzhyphen in die Watte und die Kulturröhrchen eintrat. Um diese Pilzentwickelung auszuschließen, brannte ich nach dem Impfen der Agarröhrchen die aus dem Röhrchen herausragende Watte ab und bepinselte sie mit einer Auflösung von Salicylsäure in absolutem Alkohol; bevor diese Röhrchen dann ins Vakuum kamen, wurden sie zur Verdunstung des Alkohols 1—2 Stunden bei 28° C belassen. Diese Salicylsäurebepinselung bewährte sich gut, und ich bin nachher nie mehr durch Pilzentwickelung gestört worden.

Versuche.

Versuch A.

I. $^3/_4$ Atmosphären = ca. 200 mg Sauerstoff im Liter.

1. Stamm 68. Amani
2. „ 76. Illinois
3. „ 84. Indien
4. „ 127. Reismehl
5. „ B. Clostridium americanum
6. „ C. Clostridium α
7. „ D. Clostridium β
8. „ E. Bac. amylobacter I Gruber
9. „ G. Gasphlegmone
10. „ H. Gran. butylicum
11. „ J. Gran. pectinovorum

5 Minuten auf 80° C erhitzte Sporen. Temperatur 28° C. Jeden dritten Tag neu auf 200 mg eingestellt bezw. kontrolliert, der Druck war stets unverändert geblieben.

Nach 11 Tagen bei keinem Röhrchen Keimung. (Die Kontrollen bei 1 mg Sauerstoff sind alle gekeimt.) Sie werden dann bei 1 mg Sauerstoff weiter gehalten, alle entwickeln sich nachträglich.

II. $^1/_2$ Atmosphäre = ca. 135 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Stämme. Dieselbe Versuchsanordnung. Nach 11 Tagen bei keinem Röhrchen Keimung; alle entwickeln sich nachträglich bei 1 mg Sauerstoff.

III. $^1/_4$ Atmosphäre = ca. 65 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Stämme. Dieselbe Versuchsanordnung. Dasselbe negative Resultat bei 65 mg.

Versuch B.

IV. $^3/_4$ Atmosphäre = ca. 200 mg Sauerstoff im Liter.

1. Stamm 68. Amani
2. „ 76. Indien
3. „ 127. Reismehl
4. „ B. Clostridium americanum
5. „ C. Clostridium α
6. „ D. Clostridium β
7. „ E. Bac. amylobacter I Gruber
8. „ G. Gasphlegmone

5 Minuten auf 80° C erhitzte Sporen. Temperatur 28° C. Jeden dritten Tag den Druck neu eingestellt bezw. kontrolliert.

Die mit demselben Materiale geimpften Röhrchen (Kontrollen) sind bei 1 mg Sauerstoff nach 5 Tagen alle entwickelt, meist sind freie Sporen vorhanden.

Nach 14 Tagen ist bei keinem der Röhrchen in 200 mg Sauerstoff Keimung eingetreten. Nachträglich in 1 mg Sauerstoff tritt bei allen noch Keimung ein.

V. $^1/_2$ Atmosphäre = ca. 135 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Stämme. Dieselbe Versuchsanordnung. Dasselbe negative Resultat bei 135 mg.

VI. $^1/_4$ Atmosphäre = ca. 65 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Stämme. Dieselbe Versuchsanordnung. Dasselbe negative Resultat bei 65 mg.

Versuch C.

VII. $^1/_2$ Atmosphäre = ca. 135 mg Sauerstoff im Liter.

1. Stamm 76. Indien
2. „ 127. Reismehl
3. „ C. Clostridium α
4. „ G. Gasphlegmone

5 Minuten auf 80° C erhitztes Sporenmaterial, Zimmertemperatur (ca. 20° C). Jeden dritten Tag neu eingestellt bez. kontrolliert. Die Kontrollen bei 1 mg Sauerstoff sind nach 8 Tagen alle kräftig entwickelt.

Nach 4 Wochen ist bei keinem der Röhrchen in 135 mg Sauerstoff Keimung eingetreten.

Nachträglich in 1 mg Sauerstoff entwickeln sich alle (Zimmertemperatur).

VIII. $^1/_8$ Atmosphäre = ca. 33 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Kulturen. Dieselben Versuchsbedingungen. Derselbe negative Erfolg bei 33 mg.

Versuch D.

IX. $^1/_4$ Atmosphäre = ca. 65 mg Sauerstoff im Liter.

1. Stamm 119. Hammerfest
2. „ 127. Reismehl
3. „ B. Clostridium americanum
4. „ F. Bac. saccharobutyricus

5 Minuten auf 80° C erhitztes Sporenmaterial, Temperatur 28° C. Jeden 3., später jeden 4. Tag neu eingestellt bezw. kontrolliert, der Druck hatte sich nie verändert, ebenso wie bei allen vorigen Versuchen. Die Kontrollen bei 1 mg haben nach 5 Tagen meist schon alle Sporen gebildet. Nach 37 Tagen ist bei keinem der Röhrchen in 65 mg Sauerstoff Keimung eingetreten. Nachträglich in 1 mg entwickeln sich alle.

X. $^1/_8$ Atmosphäre = ca. 33 mg Sauerstoff im Liter.

Dieselben Kulturen. Dieselbe Versuchsanordnung. Dasselbe negative Resultat bei 33 mg.

Demnach hatten wir also das Maximum der Sauerstoffspannung für die Sporenkeimung noch unter einer Konzentration von 33 mg Sauerstoff im Liter zu suchen. Ich setzte also neue Versuche an bei Konzentrationen von 10, 15 und 20 mg Sauerstoff im Liter. Zur Impfung diente wieder 5 Minuten auf 80° C erhitztes Sporenmaterial, und es braucht wohl nicht erwähnt zu werden, daß natürlich für die Parallelreihen eines Stammes stets dasselbe Sporenmaterial Verwendung fand und daß die Parallelreihen auch genau zur selben Zeit angesetzt und bei denselben Temperaturen (28° C) gehalten wurden.

Folgendes sind die Beobachtungen:

1. Stamm A („Clostridium Pasteurianum“ Winogradsky).

10 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Auf dem Agar dünner Belag aus kurzen Stäben, einige ungekeimte Sporen; nach 91 Std.: Alle

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Morphoden, meist Sporangien, zum Teil mit, zum Teil ohne Spore, vereinzelt freie Sporen; nach 111 Std.: Vorwiegend freie Sporen, daneben noch alle anderen Morphoden.

15 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Sehr dünner Belag. Neben vielen ungekeimten Sporen auch junge Stäbe; nach 91 und 111 Std.: Genau im selben Stadium wie die Kultur bei 10 mg.

20 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Genau wie bei 15 mg; nach 111 Std.: Genau wie bei 10 und 15 mg.

2. Stamm B („Clostridium americanum“ Pringsheim).

10 mg Sauerstoff. Nach 97 Std.: Nichts verändert; nach 117 Std.: Im Kondenswasser geringe Gasentwickelung, wenig trübe, sonst auf dem Agar nichts sichtbar. Meist schwärmende Stäbe, daneben noch ungekeimte Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 97 Std.: Auf dem Agar ziemlich dicker Belag, meist Stäbe, einige angeschwollen, ganz vereinzelt auch bereits reife Sporangien, alles lebhaft beweglich; nach 117 Std.: Alle Morphoden, meist reife Sporangien, auch bereits relativ viele freie Sporen.

20 mg Sauerstoff. Nach 97 Std.: Auf dem Agar keine Entwickelung, im getrübten Kondenswasser viele sehr lebhafte junge noch nicht angeschwollene Stäbe; nach 117 Std.: Kräftige Kultur. Meist dick angeschwollene Stäbe, einige reife Sporangien, sehr vereinzelt auch schon freie Sporen.

3. Stamm C (Clostridium α Haselhoff et Bredemann).

10 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Auf dem Agar sehr dünne Kultur, lebhafte junge Schwärmer, einige noch ungekeimte Sporen; nach 91 Std.: Alle Morphoden, viele reife Sporangien, auch freie Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Wie bei 10 mg, viele Sporen noch ungekeimt. Einige matt und geschwollen; nach 91 Std.: Genau wie bei 10 mg.

20 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: Genau wie bei 15 mg; nach 91 Std.: Meist freie Sporen, die übrigen Morphoden selten.

4. Stamm D (Clostridium β Haselhoff et Bredemann).

10 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: ebenso; nach 90 Std.: Kräftige Kultur, vorwiegend zylindrische Stäbe, einige geschwollen; nach 111 Std.: Vorwiegend reife Sporangien, auch relativ viele freie Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: ebenso; nach 90 und 111 Std.: Genau wie bei 10 mg.

20 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Nichts verändert; nach 67 Std.: ebenso; nach 111 Std.: Kräftige Kultur, meist Sporangien, einige frei Sporen.

5. Stamm E („Bac. amylobacter I“ Gruber).

10 mg Sauerstoff. Nach 42 Std.: Kräftige Kultur, alle Morphoden, vereinzelt freie Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 42 Std.: Ebenso wie bei 10 mg.

20 mg Sauerstoff. Nach 42 Std.: Noch nicht ganz soweit vorgeschritten, als bei 10 und 15 mg. Nur zylindrische und angeschwollene Stäbe ohne Sporen; nach 67 Std.: Alle Morphoden, relativ viele freie Sporen.

6. Stamm H („Granulobacter butylicum“ Beijerinck).

10 mg Sauerstoff. Nach 43 Std.: Dünne Kolonie, starke Gasentwickelung. Mikroskopisch?; nach 64 Std.: Kräftige Kolonie, alle Morphoden, relativ viele freie Sporen; nach 97 Std.: Meist freie Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 64 Std.: Mittelkräftige Kolonie, meist plumpe bewegliche Stäbe, einige ungekeimte Sporen; nach 97 Std: Sehr kräftige Kolonie, alle Morphoden, relativ viele freie Sporen.

20 mg Sauerstoff. Nach 64 Std.: Kräftige Kolonie, alle Morphoden, auch freie Sporen; nach 97 Std.: Fast nur freie Sporen.

7. Stamm 78 (Brandenburg).

10 mg Sauerstoff. Nach 65 Std.: Nichts verändert; nach 97 Std.: Dicke Kolonie, alle Morphoden, viele freie Sporen.

15 mg Sauerstoff. Nach 66 Std.: Dicke Kolonie, meist lebhaft schwärmende angeschwollene Stäbe, ganz vereinzelte Sporangien; nach 97 Std.: Meist lebhaft schwärmende Sporangien, dann auch freie Sporen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

20 mg Sauerstoff. Nach 66 Std.: Mittelkräftige Kolonie, nur lebhaft schwärmende zylindrische und angeschwollene Stäbe, keine Sporangien; nach 97 Std.: Alle Morphoden, vereinzelt auch freie Sporen; nach 117 Std.: Vorwiegend freie Sporen, daneben noch reife Sporangien.

Man sieht auch hier zunächst wieder, daß sich alle untersuchten Stämme völlig gleichmäßig verhalten. Alle vermögen sie bei der Konzentration von 20 mg im Liter noch zu keimen und ihren Entwickelungsgang in normaler Weise durchzuführen.

Es wird mit Recht auffällig erscheinen, wie scharf begrenzt das Maximum der Sauerstoffspannung für die Sporenkeimung zu liegen scheint, und zwar für alle Stämme völlig gleichartig. Bei 20 mg Sauerstoff im Liter haben wir bei allen noch ganz normale Entwickelung von Spore zu Spore, bei einer Konzentration von 33 mg findet bei keinem Stamme mehr Keimung statt. Das Maximum ist ohne Frage mit 20 mg noch nicht erreicht, es liegt zwischen 20 und 33 mg, wahrscheinlich mehr nach der unteren als nach der oberen Grenze zu. Weitere Untersuchungen werden auch noch über das genaue Maximum Aufschluß geben.

Es ist nun interessant, den Entwickelungsgang mit Bezug auf die Sporenbildung bei den verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen von 10, 15 und 20 mg zu vergleichen. Wir sehen, daß diese Konzentrationen scheinbar bei unserem Bac. amylobacter ohne verschiedenen Einfluß sind. Betrachten wir die Schnelligkeit der Keimung und der Sporenbildung bei diesen Konzentrationen: Bei Stamm A (Clostridium Pasteurianum) und D (Clostridium β) ist gar kein Unterschied vorhanden. Bei Stamm C (Clostridium α) ist die bei 10 mg gewachsene Kultur am weitesten entwickelt, die bei 15 und 20 mg sind etwas zurück, unter sich aber gleich. Genau umgekehrt verhält sich Stamm B (Clostridium americanum). Beim Stamm E sind die bei 10 und 15 mg Sauerstoff gehaltenen Kulturen am weitesten vorgeschritten und unter sich gleich, beim Stamm H die bei 10 und 20 mg, während die bei 15 mg zurück ist, beim Stamm 78 wieder ist letztere am weitesten vorgeschritten und sind die bei 10 und 20 mg gehaltenen zurück, nach 97 Stunden hat dann die bei 10 mg gehaltene Kultur die bei 15 mg gehaltene wieder eingeholt und die bei 20 mg gehaltene überflügelt, so daß sich jetzt 10 und 15 mg gleich verhalten und 20 mg etwas zurückgeblieben ist. Es kommen also alle Stadien, Uebergänge und Zwischenstufen vor, so daß man wohl berechtigt ist, die beobachteten Unterschiede als rein zufällige Erscheinungen anzusehen; es scheint, als ob die „Bonalweite“[1]) unserer Species für die Sauerstoffkonzentration eine gegenüber ihrer Latitude verhältnismäßig große sei, denn wir haben gesehen, wie alle Stämme zwischen 1 mg (s. p. 447) und 20 mg gleich gut, also annähernd optimal wachsen.

b) Das Maximum der Sauerstoffspannung für Sporenbildung und Oidienwachstum

wurde noch nicht genau festgestellt. Zufällig wurde die Beobachtung gemacht, daß junge Kulturen, aus dem Vakuum an die Luft gebracht, scheinbar in ganz normaler Weise ihren Entwickelungsgang zu Ende führten und zur reichlichen Sporenbildung kamen. Diese Erscheinung hätte mit den Erfahrungen, die man bisher mit den sogenannten „Aëroben“ gemacht hat, im Widerspruch gestanden. Bei diesen zeigte sich (Wund) der Sporenbildungsprozeß als der empfindlichste, indem das Maximum für die Sporenbildung meist bedeutend tiefer lag, als das für Sporenkeimung und Oidienwachstum. Beim näheren Verfolg stellte sich dann auch der Grund für diese beobachtete scheinbar anormale Erscheinung heraus. Wurde eine junge Kultur, die aus lebhaft beweglichen, zum Teil bereits anschwellenden Oidien bestand, und eine genügende Menge Kondenswasser enthielt, an die Luft gebracht und unter gewöhnlichen aëroben Bedingungen bei 28° C gehalten, so entwickelte sich dieselbe im Kondenswasser in der Tat fast ganz normal weiter, nach kürzerer Zeit konnte das Auftreten der ersten Sporen beobachtet werden, die dann bald in ganz normaler Weise frei wurden. Vom Kondenswasser aus breitete sich die Kultur sehr häufig zwischen Agar und Glaswand aus und kam auch hier ganz normal zur Sporenbildung. Anders verhielt sich die Kultur auf der Schrägfläche des Agars. War dieselbe, wie es ja oft vorkommt, sehr üppig und hochaufliegend, so kam es auch hier zu Sporenbildung trotz scheinbaren vollständigen Sauerstoffzutrittes. Jedoch wurden immer nur einige Sporen normal ausgebildet, in den meisten Sporangien entstanden allerdings Sporenanlagen, diese wurden aber selten zu reifen Sporen, sondern blieben matt, scheinbar hohl. Solche Gebilde wurden auch aus den Sporangien frei, es fanden sich dann in der Kultur eine Menge anscheinend ausgesogener Sporen. Von der Agaroberfläche drang dann meist die Kultur ins Innere vor. Die noch nicht angeschwollenen Stäbchen bekamen nach kürzerer Zeit ein körniges krankhaftes Aussehen und starben dann ab. War der Belag auf dem Agar nur dünn, so kam es bei meinen Versuchen nie zur Sporenbildung, auch bei den angeschwollenen Stäben nicht, diese bekamen dann ebenfalls bald ein körniges Aussehen. Noch besser traten diese Erscheinungen hervor, wenn man aus der anaërob gehaltenen, aus beweglichen teils unangeschwollenen, teils angeschwollenen Stäben bestehenden Kultur eine Oese voll auf neue D-Agar-Schrägflächen übertrug und dann diese Röhrchen ganz aërob bei 28° C hielt. So wurden folgende Beobachtungen gemacht.

---

[1]) Unter Bonalweite (s. Wund 1906) versteht Prof. Meyer die Breite (für Temperatur, Sauerstoff usw.), bei der eine Species optimal wächst. Diese Bonalweite ist sowohl für die Temperatur (Blau 1905), wie für die Sauerstoffkonzentration (Wund) für verschiedene Species sehr verschieden. Wund fand z. B., daß Bac. Ellenbachensis zwischen 20 und 537 mg Sauerstoff bei allen Konzentrationen fast optimal wächst, während z. B. Bac. sphaericus nur eine enge Bonalweite, die ungefähr von 276 bis 537 mg Sauerstoff reicht, besitzt.

1) Stamm 119. Von 18½ Stunden alten, bei 1 mg Sauerstoff und 28° C gewachsenen, zum Teil etwas angeschwollenen, schwach beweglichen Stäben wurde eine große Oese auf der Oberfläche eines D-Agar-Röhrchens verteilt und dieses bei 28° C gehalten.

Nach 1½ Stunden: Keine Weiterentwickelung. Mikroskopisch an den Stäben keine Veränderung wahrnehmbar, die Schwärmfähigkeit ist verschwunden.

Nach 6 Stunden: Die Stäbe bekommen ein körniges Aussehen.

Nach 24 Stunden: Aeußerlich keine Entwickelung bemerkbar, Stäbe körnig, bisweilen in ihnen glanzlose leere Sporen.

2) Stamm D. Impfmaterial genau wie bei Stamm 119.

Nach 1½ Stunden: Keine Veränderung sichtbar. Stäbe von normalem Aussehen, noch in Bewegung.

Nach 6 Stunden: Im Kondenswasser lebhafte Entwickelung. Dicke, zum Teil bewegliche Stäbe, viele mit Sporenanlage, einige mit normalen glänzenden, viele mit anormalen matten Sporen in sich, auch relativ viele große matte Sporen frei.

Entwickelt sich im Kondenswasser und zwischen Glas und Agar normal weiter.

3) Stamm G. Impfmaterial genau wie oben.

Nach 1½ Stunden: Keine Weiterentwickelung bemerkbar, mikroskopisch keine Veränderung. Kein Schwärmen mehr.

Nach 6 Stunden: Aeußerlich keine Entwickelung bemerkbar. Oidien werden körnig, sonst keine Veränderung.

Nach 24 Stunden: Ebenso, einige Sporangien mit leeren glanzlosen Sporen.

Die genaue Feststellung des Maximums der Sauerstoffspannung für Oidienwachstum und Sporenbildung muß natürlich noch versucht werden. Sie ist jedoch nicht ganz leicht einwandfrei durchzuführen. Wir haben gesehen, daß schon in ganz geringen Schichten — Kondenswasser, hochaufliegende Kultur — es trotz anscheinend vollständigen Sauerstoffzutritts zur reichlichen Sporenbildung kommen kann. Diese Erscheinung ist nur dadurch ermöglicht, daß der Bac. amylobacter A. M. et Bred. bei ca. 20 mg Sauerstoff im Liter (s. p. 455) seinen ganzen Entwickelungszyklus noch normal durchführen kann; man kann sich die Weiterentwickelung bei völligem Luftzutritt dann so erklären, daß jedes Stäbchen um sich selbst schon eine gewisse niedere Sauerstoffpression und dadurch den in etwas tieferen Schichten lebenden zur Existenz mögliche Bedingungen schafft[1]). Es ist anzunehmen, daß in dünneren Schichten — hochaufliegende Kolonieen — die zu oberst wachsenden Individuen bald absterben, inzwischen aber haben sie schon dazu beigetragen, eine Zeitlang günstigere Lebensbedingungen für die tiefer wachsenden Oidien zu schaffen, ebenso wird es sich dann wieder bei diesen verhalten usf., unterdessen haben die in noch tieferen Schichten wachsenden sich schon normal weiterentwickelt und vielleicht schon Sporen ausgebildet. Noch günstiger stellen sich naturgemäß die Verhältnisse im Kondenswasser, wo die lebhaft beweglichen Individuen an der Oberfläche, sobald der Sauerstoff beginnt, für sie schädigend zu wirken, tiefere Schichten aufsuchen können, während andere an ihre Stelle treten.

Diese erwähnten Verhältnisse sind beim Anstellen der Versuche zur Bestimmung des Maximums der Sauerstoffspannung für Oidienwachstum und Sporenbildung sehr wohl zu berücksichtigen.

c) Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Sporenbildung und Oidienwachstum.

Exakte Versuche über die Bestimmung des Minimums der Sauerstoffspannung lagen bislang nicht vor. Während ich noch mit der genauen Feststellung desselben beschäftigt war, erschien eine Arbeit von Kürsteiner, welcher einige diese Frage berührende Versuche mitteilt. Auf die Methodik der Kürsteinerschen Versuche bin ich in meiner kürzlichen Mitteilung über die Variationsbreite des Bac. asterosporus näher eingegangen und kann hier auf die genannte Stelle verweisen (1908, p. 65). Kürsteiner kam es bei seinen Versuchen nicht darauf an, das Minimum für Sporenkeimung und Sporenbildung zu bestimmen, sondern er wollte den Nachweis erbringen, „daß es Wesen gibt, die sich bei dauerndem Ausschluß freien Sauerstoffs normal entwickeln“. Er benutzte eine sehr sinnreich konstruierte Versuchsanordnung, die es gestattete völlig sauerstofffreies Impfmaterial unter Sauerstoffausschluß in ein sauerstofffreies Medium überzuimpfen. Als Sauerstoffreagens benutzte er die Leuchtbakterien. Er untersuchte unter anderen auch den „beweglichen Buttersäurebacillus“ Schattenfroh und Grassberger und den „unbeweglichen Buttersäurebacillus“, die er beide aus Erde isolierte und von denen vorzüglich der erste höchstwahrscheinlich zu unserem Bac. amylobacter gehört. Ferner benutzte er den Bac. putrificus Bienstock, den er sehr häufig im Boden fand. Diese 3 Organismen entwickelten sich „in absoluter Anaërobiose auch bei einer größeren Zahl von Ueberimpfungen ungeschwächt fort“. Es fehlen Angaben darüber, ob die Impfungen mit reinem Sporenmaterial oder mit Oidien oder mit beiden Formen vorgenommen wurden. Nach Passage einer aus 13 Gläsern bestehenden Reihe durch den „unbeweglichen Buttersäurebacillus“, wobei von 2 zu 2 Tagen je eine folgende Kultur geimpft wurde, zeigte das mikroskopische Bild in der letzten Kultur „typische Stäbchen des unbeweglichen Buttersäurebacillus“. Beim diesbezüglichen Versuch mit dem „beweglichen Buttersäurebacillus“ fehlt eine entsprechende Angabe, es wird nur aus der charakteristischen Trübung und aus der aus dem letzten (16.) Röhrchen gewonnenen Kultur auf die Entwickelung des beweglichen Buttersäurebacillus geschlossen. In der Putrificus-Reihe waren in der letzten (sechsten) Kultur „isolierte Sporen, vegetative Stäbe, typische vegetative Putrificus-Keulenformen und prächtige Clostridien“ vorhanden. Diese Versuche Kürsteiners hatten den Beweis erbracht, daß eine Entwickelung seiner Arten bei absoluter Sauerstoffabwesenheit möglich ist.

---

[1]) Nachschrift bei der Korrektur: Siehe auch Meyer, Arthur: Bemerkungen über Aërobiose und Anaërobiose. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XLIX. 1909. p. 305.)

Ich war, wie gesagt, bereits damit beschäftigt, das Minimum der Sauerstoffspannung festzustellen, als diese Arbeit von Kürsteiner erschien und hatte ebenfalls vor, die Leuchtbakterien als Sauerstoffreagens zu benutzen.

Meine Versuchsanordnung war dieselbe, wie die, welche bei der Bestimmung des Minimums der Sauerstoffspannung für Bac. asterosporus benutzt wurde (1908). Vorher sauerstofffrei gemachte Röhrchen mit D-Agar bezw. Dextrose-Pepton-Fleischextrakt-Lösung (s. a. Kap. II, Methodisches, p. 421) wurden mit 5 Minuten lang auf 80° erhitztem Sporenmateriale geimpft und kamen zusammen mit 5 jungen, aus Stäbchen bestehenden Kulturen des Bac. asterosporus auf D-Agar — Watte entfernt — und 2 lebhaft leuchtenden Kulturen des Bact. phosphoreum Cohn-Molisch[1]) auf schräger Gelatine und in Nährlösung ins Kulturvakuum, welches sofort soweit wie möglich ausgepumpt wurde. Das Manometer zeigte noch 0,1 mg Sauerstoff im Liter an. Angesetzt wurden drei Parallelgefäße, die zunächst bei 10° aufbewahrt wurden.

Nach 15 Stunden war noch in allen Gefäßen schwaches Leuchten bemerkbar, 24 Stunden später war dasselbe fast gänzlich verschwunden, erst nach völligem Ausruhen des Auges im ganz verdunkelten Raume waren nach längerer Zeit an den untersten Partieen der Gelatineschrägröhrchen noch ganz kleine leuchtende Punkte vorhanden, in den Nährlösungen hatte das Leuchten völlig aufgehört. Es war also kein Zweifel mehr vorhanden, daß die Bac. asterosporus- und Leuchtbakterienkulturen die Spur Sauerstoff, die durch das Auspumpen nicht entfernt war, fast ganz aufgebraucht hatten, nur schienen in den Gelatinenährböden, die ja nicht vorher sauerstofffrei gemacht werden konnten, noch geringe Mengen von Sauerstoff gelöst zu sein. Nach weiteren 24 Stunden hatte dann jegliches Leuchten aufgehört, auch mit völlig ausgeruhtem

---

[1]) Für Ueberlassung der Leuchtbakterien bin ich Herrn Prof. Molisch in Prag zu größtem Danke verbunden.

Auge war keine Spur eines Leuchtens mehr zu beobachten. Trotzdem blieben die Kulturen noch weitere 24 Stunden zur restlosen Absorption des Sauerstoffs bei 10° stehen. Das eine Kulturvakuum wurde nun geöffnet, sofort trat wieder lebhaftes Leuchten ein. Die sehr sorgfältig durchgeführte mikroskopische Untersuchung der Kulturen zeigte in allen Röhrchen nur unveränderte, glänzende Sporen. Keimung war noch nirgends eingetreten. Dann wurden von den übrigen beiden, also absolut sauerstofffreien Kulturvakua, das eine bei 28° und das andere bei 15° C gehalten.

Nach 14 Tagen wurde geöffnet.

A. Kulturgefäß bei 28°. Stamm A, B, C und H: Bei allen kräftige Entwickelung.

1) Stamm A (Cl. Pasteur. Winogr.). D-Agar, kräftiger Belag, alle Morphoden, meist angeschwollene Stäbe und Sporangien, zum Teil auch freie reife Sporen.

2) Stamm B (Cl. americ. Pringsh.). Nährlösung + Marmor. Dicker Bodensatz, fast nur reife Sporen, vereinzelte andere Morphoden.

3) Stamm C (B. amylob. Gruber). Nährlösung + Marmor. Genau wie 2.

4) Stamm H (Gran. butylic. Beij.). Nährlösung + Marmor. Genau wie 2.

B. Kulturgefäß bei 15°. Außer obigen 4 Stämmen noch Stamm D und J. Bei allen kräftige Entwickelung.

1) Stamm A (Cl. Pasteur. Winogr.). Nährlösung + Marmor. Kräftige Entwickelung, ganz getrübt. Vorwiegend kurze plumpe Oidien, einige geschwollen, ferner reife Sporangien. Alles schwärmend.

2) Stamm B (Cl. americ. Pringsh.). D-Agar, kräftige Kultur, alle Morphoden, meist Sporangien und freie Sporen, ferner Oidien. Lebhafte Bewegung.

3) Stamm E (B. amylob. Gruber). D-Agar. Genau wie 2.

4) Stamm H (Gran. butylic. Beij.). D-Agar. Genau wie 1. Daneben auch freie Sporen.

5) Stamm D (Cl. β Haselh. et Bredem.). Nährlösung + Marmor. Vorwiegend freie Sporen, daneben lebhaft schwärmende Oidien und Sporangien.

6) Stamm J (Gran. pectinov. Beij. u. van Delden). Nährlösung + Marmor. Genau wie 5.

Wir haben also die interessante Tatsache vor uns, daß ein Minimum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung des Bac. amylobacter fehlt.

Dasselbe Verhalten haben auch Kürsteiner (1907) und ich (1908) beim Bac. asterosporus gefunden. Zwischen beiden Bakterienspecies herrscht insofern ein großer Unterschied, als die Latituden[1]) beider ungemein verschieden sind. Die Latitude des Bac. amylobacter ist sehr klein, sie liegt zwischen 0 und ca. 25 mg, während die Latitude des Bac. asterosporus zwischen 0 und über 5500 mg Sauerstoff im Liter liegt!

4. Entwickelung auf verschiedenen Nährböden.

A. Feste Nährböden.

1) Agar verschiedener Zusammensetzung.

Der Zweck der Versuche war in erster Linie natürlich wieder der, das Verhalten der verschiedenen Stämme zu vergleichen, ferner sollte untersucht werden, ob sich zur Kultivierung der verschiedenen Stämme unseres Bac. amylobacter ein anderer Nährboden als D-Agar als besser erweisen würde, und zwar besonders für eine reichliche regelmäßigere Sporenbildung. (Die Versuche wurden angestellt, nachdem die Kulturen sich erst ca. $^1/_4$—$^1/_2$ Jahr in Kultur befanden und ihren Entwickelungsgang noch nicht alle regelmäßig durchführten.

---

1) Mit „Latitude" bezeichnet Herr Prof. Arth. Meyer das Intervall zwischen Minimum und Maximum (s. Wund).

Folgende Nährböden wurden versucht:

1) D-Agar (s. Methodisches, Kap. II).

2) D-Agar alkalisch (= D-Agar + 1 Proz. kristall. Natriumkarbonat).

3) $^1/_3$ D-Agar (= Agar von $^1/_3$ der Nährstoffkonzentration des D-Agars). 0,4 Proz. Pepton, 0,3 Proz. Fleischextrakt, 0,07 NaCl, 0,3 Proz. Dextrose.

4) D-Agar + 0,5 Proz. Magnesiumoxyd.

5) D-Agar + 2 Proz. Calciumkarbonat [1]).

6) Mineralagar + Dextrose neutral. 8 g Agar, 500 ccm mineralische Nährlösung (s. u.), 5 g Dextrose.

7) Mineralagar + Dextrose alkalisch. Wie 6, mit Zusatz von 0,5 Proz. krist. Natriumkarbonat.

8) Mineralagar + Mannit. 8 g Agar, 500 ccm mineralische Nährlösung, 5 g Mannit.

9) Asparaginagar. 8 g Agar, 500 ccm mineralische Nährlösung, 5 g Asparagin, 10 g Rohrzucker.

10) Heydenagar. 13 g Agar, 1000 ccm Wasser, 8 g Nährstoff Heyden, 20 g Dextrose.

11) Stärkeagar, stickstofffrei. 8 g Agar, 500 ccm mineralische Nährlösung, 12,5 g Kartoffelstärke.

12) Stärkeagar + Ammoniumnitrat. Wie 11, + 0,1 Proz. Ammoniumnitrat.

13) Agar ohne Dextrose. 8 g Agar, 500 ccm Wasser, 6 g Pepton Witte, 4 g Fleischextrakt Liebig, 1 g Kochsalz.

14) Erdagar. 500 g getrocknete und gesiebte Gartenerde wurden mit 750 ccm Wasser 1 Stunde lang im Autoklaven bei 2 Atm. Ueberdruck gekocht, filtriert und der Rückstand mit 1000 g kochenden Wassers übergossen. Nach dem Absetzen wurde abgegossen und noch zweimal mit kochendem Wasser ausgezogen. Die vereinigten Auszüge wurden eingedampft, filtriert und so eingestellt, daß 1 Teil Extrakt = 5 g Erde entsprach. 100 g dieses Extraktes (= 500 Erde) + 400 Wasser + 8 g Agar = Erdagar.

Die verwendete mineralische Nährlösung nach Arth. Meyer (Praktikum, p. 15) war stets zusammengesetzt:

K^2HPO^4 0,1, $CaCl^2$ 0,01, $MgSO^4$ 0,03, NaCl 0,01, $FeCl^3$ (20 Proz.) 1 Tropfen, Wasser 100 ccm, nicht filtriert!

Geimpft wurde mit Sporenmaterial, welches 5 Minuten auf 80° erhitzt wurde. Alle Röhrchen wurden im Kulturvakuum bei einer Verdünnung von 2 mg Sauerstoff im Liter gehalten. Die Impfung geschah am 7. Aug. 1906. Die ersten 3 Tage wurde täglich, später seltener (16. Aug., 23. Aug., 3. Sept., 10. Sept.) Luft zutreten lassen und sofort wieder auf den früheren Druck eingestellt. Die Kulturen wurden zunächst 4 Wochen bei 28° und dann weitere 4 Wochen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 8 Wochen wurden alle Kulturen makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

In folgender Tabelle sei zunächst die Intensität der Entwickelung auf den verschiedenen Nährböden zusammengestellt. Die Zahlen 1 bis 5 bedeuten: sehr kräftig bis sehr schwach; 5—0 bedeutet: kaum Entwickelung bemerkbar. Alle Zahlen sind absolute.

(Siehe Tabelle XI p. 462.)

Man sieht, wie sich alle Stämme auch bezüglich der Bevorzugung des einen oder anderen Nährbodens sehr gleichartig verhalten. Die kräftigste Entwickelung fand bei allen auf D-Agar statt, auf dem sie bislang auch gezüchtet worden waren, annähernd ebenso kräftig war die Entwickelung auf Asparaginagar, auch Stärkeagar + Ammoniumnitrat und alkalischer D-Agar erwies sich als zum kräftigen Wachstum nicht ungeeignet, die übrigen erwiesen sich als weniger gut; gleichmäßig

---

[1]) Erwies sich als unpraktisch, da er durch die starke CO^2-Bildung, hervorgerufen durch die erzeugte Säure, völlig zerklüftet wurde, er wurde daher zu weiteren Versuchen ausgeschaltet.

Tabelle XI.
Intensitätstabelle der Entwickelung auf verschiedenen Nährböden (28°, 2 mg Sauerstoff, 8 Wochen).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	D-Agar	D-Agar alkalisch	$^1/_3$ D-Agar	D-Agar + 0,5 Proz. MgO	Mineralagar + Dextrose neutral	Mineralagar + Dextrose alkal.	Mineralagar + Mannit	Asparaginagar	Heyden-Agar	Stärkeagar ohne N	Stärkeagar + Ammonnitrat	Agar ohne Dextrose	Erdagar
Stamm 17 a. Buitenzorg	1—2	3	3—4	1—2	3	?	4	2—3	5	3	3	3	3—4
„ 56. Kamerun	2	3—4	4	3	2—3	3—4	3—4	2—3	5—0	4	3	5	4
„ 68. Amani	1	2	2—3	0	4—5	4—5	5	2—3	0	3—4	3	4	4
„ 76. Illinois	1	3—4	4	5	5—0	5	4—5	2	5—0	3	2—3	5	4
„ 92. Kiautschou	2	3	4	3—4	4	4—5	?	1	4—5	4	4	4	5
„ Aα („Cl. Pasteurian.“ Winogradsky)	2	1—2	3	3—4	4	4	4—5	1	5—0	3—4	3	0	0
Stamm B („Cl. american.“ Pringsheim)	1	2—3	3	3—4	?	3—4	4	3	5	3—4	3	5	4—5
Stamm C („Cl. α“ Haselhoff et Bredemann)	1	1—2	2	5	3	3	3—4	1—2	5—0	3	2—3	4	4
Stamm D („Cl. β“ Haselhoff et Bredemann)	1	3—4	3	4	4	4	4	2	5—0	3—4	2—3	4	4—5
Stamm G („B. d. Gasphlegmone“)	2	2	3	4—5	4	5	3—4	2	5—0	4	2—3	4	4—5

schlecht wuchsen alle auf Agar ohne Dextrose, auf Heyden-Agar und auf Bodenagar. Interessant sind die Verhältnisse zwischen D-Agar und Heyden-Agar, aus denen der große Einfluß der Stickstoffverbindungen sehr schön hervorgeht.

Der weitere Zweck der Versuche war der, zu untersuchen, ob irgend ein Nährboden besonders günstig auf die Sporenbildung einwirke.

Da die genaue Beschreibung der mikroskopischen Befunde hier zu weit führen würde, seien dieselben nur zusammenfassend berichtet. (Ueber die Größe der auf diesen verschiedenen Nährböden gebildeten Sporen s. p. 431.)

1) **D-Agar.** Bei allen Stämmen kräftige Entwickelung; fast nur Sporen, diese von mehr oder weniger großen Sporangienmembranresten umgeben. Eine Ausnahme macht Stamm Aα: einige Stäbe ohne Glykogen, sonst nur zur Sporangienbildung angeschwollene Stäbe mit körnigem Glykogen und noch nicht ganz reifen Sporen.

2) **D-Agar alkalisch.** Die Entwickelung war ungleichmäßiger, die Sporenbildung im allgemeinen nicht so reichlich. Die Stämme 17, 76, 92 u. G enthalten verhältnismäßig viele Sporen, bei den Stämmen 56 u. Aα waren gar keine Sporen ausgebildet, in beiden ausschließlich Stäbe, kurz, mit verschieden starker Glykogenspeicherung. Beim Stamme B war reichlicher Zerfall in Mikrooidien zu bemerken.

3) **$^1/_3$ D-Agar.** Wachstum nur mäßig, Sporenbildung aber bei allen Stämmen gleichmäßig gut.

4) **D-Agar + MgO.** Dieser Nährboden übte einen eigentümlichen charakteristischen, bei allen Stämmen wieder sehr gleichartig ausgeprägten Einfluß aus. Aufgefallen war schon früher die bei allen Stämmen zutage tretende starke Verkleinerung der Sporen (s. p. 48). Die Sporenbildung als solche war allerdings gut ausgeprägt, außer bei Stamm 56, bei dem nur Mikrooidien, und bei Stamm C, bei dem neben sehr wenigen Sporen meist dicke aufgeblähte Oidien mit viel Glykogen gefunden wurden. Die Form der auf diesem Nährboden ausgebildeten Sporangien war bei allen Stämmen durchgehends stark trommelschlägerartig. Bei allen Stämmen waren die Sporen noch mit größeren Resten der Sporangienmembran umgeben, auch bei Stamm B („Cl. american.“ Pringsh.), bei dem sonst im allgemeinen die Sporangienmembran abgeworfen wird (s. p. 438).

5) Mineralagar + Dextrose neutral. Im allgemeinen nur schwaches bis sehr schwaches Wachstum, Sporenbildung recht gut, außer bei Stamm G, bei dem nur vereinzelte Sporen und bei Stamm 56, bei dem ausschließlich ziemlich lange Stäbe mit reichlich Glykogen vorhanden waren.

6) Mineralagar + Dextrose alkalisch. Entwickelung wie bei 5, Sporenbildung im allgemeinen gut.

7) Mineralagar + Mannit. Wachstum schwach bis sehr schwach. Sporenbildung ganz gut.

8) Asparaginagar. Wachstum annähernd ebensogut wie auf D-Agar. Auch mikroskopisches Bild dasselbe, meist reichlich Sporen, außer bei Stamm Aα u. 56.

9) Heyden-Agar. Sehr mäßiges Wachstum, vorwiegend Sporen.

10) Stärkeagar, N-frei. Wachstum mittel gut. Sporenbildung in allen Kulturen vorzüglich, auch bei den Stämmen Aα u. 56, die (s. oben) sonst bei diesen Versuchen schlecht Sporen bildeten.

11) Stärkeagar + Ammonnitrat. Entwickelung etwas besser als bei 10. Sporenbildung ebenfalls sehr gut.

12) Agar ohne Dextrose. Entwickelung zum Teil sehr mäßig, Kulturen bestanden fast nur aus Sporen.

13) Erdagar. Genau wie bei 12.

Es geht aus diesem wiederum hervor, wie gleichartig sich alle Stämme verhielten. Die Stämme Aα (Winogradsky) und 56 (Kamerun) machen bisweilen eine Ausnahme, doch rührt das daher, daß ersterer Stamm sehr geschwächt war und auf D-Agar kaum mehr Sporen bildete, und daß letzterer (56) ganz frisch isoliert war. Er zeichnete sich, um das hier zu bemerken, kurz nach seiner Isolierung dadurch aus, daß selbst ganz reife Sporen die Sporangienwand völlig um sich behielten; der Inhalt der Mutterzelle wurde aufgesogen und dann fiel die Membran faltig um die Spore zusammen (s. Fig. 19, Taf. I); nach längerer Kultivierung verlor er diese Eigentümlichkeit fast völlig (s. auch p. 438).

Auf zwei Eigentümlichkeiten muß noch aufmerksam gemacht werden, die auch allen Stämmen eigen waren. Das ist zunächst eine bisweilen zu beobachtende schmutzig-violettrote Färbung einiger Kolonieen. Es waren in einer Kultur nie alle gefärbt, meist nur die oberen, an den trockeneren Partieen des Agars wachsenden oder, wenn die Entwickelung vom Kondenswasser ausgegangen war, der vom Kondenswasser am weitesten entfernte Rand der Kultur. Die rote Farbe erstreckte sich nur auf die Oberfläche der Kolonieen, im Inneren war sie stets normal weiß gefärbt. Ich habe schon früher mitgeteilt, daß ähnliche Erscheinungen auch bei Bac. asterosporus beobachtet werden können. Ferner war die Form der auf Stärkeagar entstehenden Kolonieen auffällig verschieden von der Form derjenigen, die auf den übrigen Nährböden entstanden. Auf D-Agar z. B. und auch auf den anderen untersuchten Nährböden waren die Einzelkolonieen stets scharf begrenzt, meist kreisrund und, sofern das Wachstum gut war, kugelig erhaben auf der Schrägfläche des Agars aufliegend. Auf dem Stärkeagar kamen solche Kolonieen sehr selten vor, allermeist waren sie sehr klein, punktförmig mit unregelmäßig strahligem Rande, die Strahlen gingen auch in den Agar hinein und machten dadurch ein Abheben der Kolonieen vom Nährboden fast unmöglich. Auch der Nährboden selbst war mit sehr kleinen strahligen Kolonieen durch und durch durchsetzt. Diese Erscheinung war bei allen untersuchten Stämmen in gleicher Weise ausgeprägt.

Trotz des bisweilen hervortretenden günstigen Einflusses der zuckerfreien bezw. zuckerarmen Nährböden auf die Sporenbildung, entschloß ich mich doch, den D-Agar als Nährboden beizubehalten, weil doch schließlich auf D-Agar die Entwickelung am kräftigsten und normalsten verlief.

2) Kartoffel.

Von sonstigen festen Nährböden fanden noch Kartoffelstücke Verwendung, die mit Kreide eingerieben waren. Dieser Nährboden eignet sich ganz vorzüglich zur Kultur des Bac. amylobacter. Ich hätte ihn allgemein benutzt, aber der D-Agar ist bequemer zu verwenden und war ferner seiner soweit wie möglichen konstanten Zusammensetzung wegen besser zum Vergleich der Stämme geeignet, als der Kartoffelnährboden, aber es ist zu betonen, daß die Kultur auf Kartoffel zur Erhaltung der Gärfähigkeit und Sporenbildung vorteilhafter ist. Ein irgendwie charakteristisches Wachstum findet auf Kartoffel nicht statt, meistens ist die ganze Oberfläche mit einer gleichmäßig dünnen Kultur bedeckt, die makroskopisch kaum bemerklich ist. Ueber diesen dünnen gleichmäßigen Belag erheben sich bald einige warzige, gelbliche, meist trocken aussehende und punktförmige kleine Kolonieen, wie dieselben auch Winogradsky u. a. beschreiben. Eine weitgehende Erweichung des Nährbodens konnte nur in einem Falle beobachtet werden (Stamm I „Gran. pectinovorum“ Beij. und van Delden), aber auch bei diesem Stamm verschwand diese Eigenschaft nach längerer Kultivierung (siehe auch Kapitel 6 „Rösteerreger“).

3) Gelatine mit Dextrose.

Die benutzte Gelatine war zusammengesetzt: 6 g Pepton Witte, 4 g Fleischextrakt Liebig, 1 g Chlornatrium, 5 g Dextrose, 100 g Gelatine, 500 g Wasser, unterschied sich also von der in Arth. Meyers Praktikum der botanischen Bakterienkunde verwendeten D-Nährgelatine durch ihren um das Doppelte vermehrten Gelatinegehalt. Diese hohe Gelatinekonzentration wurde zu dem Zweck gewählt, um die Nährböden noch bei den Temperaturen von 22° bis 25° halten zu können, da die Erfahrung gezeigt hatte, daß bei niedriger Temperatur die Entwickelung langsam und infolgedessen auch unregelmäßiger vor sich geht.

Alle Stämme wuchsen in Dextrose-Gelatine vorzüglich, auch der Stamm A (Clostrid. Pasteurianum). Winogradsky gibt an, daß es nicht gelingt, auf Nährgelatine eine Kultur desselben zu bekommen, ebensowenig wie in Bouillon. „Eine Impfung mit einer Reinkultur ließ die Bouillon und die Gelatine absolut klar und unbegrenzt steril, und ich kenne selbst kein besseres Mittel, sich von der Reinheit seiner Kulturen zu überzeugen, als von derselben einige Tropfen in gewöhnliche Bouillon, welche sich in hohen schmalen Röhrchen befindet, auszuimpfen, sie muß unverändert bleiben“ [1]). Es ist schwer zu sagen, wodurch Winogradsky zu seinem entgegengesetzten Befund gelangte, der dann in der Literatur immer mit als besonderes Charakteristikum seines Bakteriums hingestellt worden ist. Der Originalstamm, den ich in Händen hatte, wuchs sowohl in Dextrose-Gelatine, wie in Bouillon (Pepton, Fleischextrakt, Rohrzucker āā 1,0, Wasser 100) vorzüglich. Es ist auch nicht anzunehmen, daß inzwischen eine Gewöhnung an diesen Nährboden stattgefunden haben sollte, denn auch solche Stämme, die durch das Winogradskysche Verfahren zum ersten Male in stickstofffreier Nährlösung in Rohkultur erhalten wurden, wuchsen bei Uebertragung aus derselben in Gelatine vorzüglich, so daß man wohl zur Reinzüchtung Gelatineplatten anstatt D-Agarplatten verwenden könnte

---

[1]) Später wird von Winogradsky (1902) mitgeteilt, daß einige Male in Nährbouillon schwaches Wachstum einzutreten schien.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

(freilich ist die Gelatine nicht bei 28° verwendbar), da anscheinend auf Gelatineplatten der Mikrooidienzerfall nicht so häufig eintrat, doch habe ich über diesen Punkt noch keine speziellen Erfahrungen gesammelt.

Auch Grassberger und Schattenfroh (1902) teilen mit, daß Zuckergelatine für ihren „beweglichen Buttersäurebacillus“, der ja wahrscheinlich mit unserem Bac. amylobacter identisch sein dürfte, einen ausgezeichneten Nährboden bildet insbesondere zur sicheren Erzeugung von Sporen, wie dies auch bereits von Gruber (1887) hervorgehoben worden ist.

Die Form der in Dextrosegelatine entstehenden Kolonieen war nicht weiter charakteristisch: kugelige, scharf begrenzte, bisweilen knollige oder linsenförmige Kolonieen, die sich nur allmählich vergrößerten und in seltenen Fällen höchstens 4 mm im Durchmesser maßen. Ihre Form entspricht genau der, die Grassberger und Schattenfroh als Typus I ihres „beweglichen Buttersäurebacillus“ beschreiben und abbilden.

Eine Verflüssigung der Gelatine fand durch keinen unserer Stämme statt. Auch der Stamm J (Gran. pectinovorum Beijerinck und van Delden), welcher nach Beijerinck und van Delden peptonisieren soll, verflüssigte bei meinen Versuchen nicht[1]). Ich kann einen Grund für diese Erscheinung nicht mit Sicherheit angeben, muß aber betonen, daß ich nur mit sehr konzentrierter Gelatine bei einer Temperatur von ca. 22° operiert habe und meine Angaben sich auf diese Verhältnisse beziehen; allerdings habe ich auch nach monatelangem Stehen keine Verflüssigung eintreten sehen. Daß ein Verlust der Eigenschaft des Peptonisierens auf meinem Material eingetreten ist, ist nicht wahrscheinlich, denn direkt aus der Rohkultur in Gelatine gebrachte Stämme haben ebenfalls in derselben keine Peptonisierung hervorgerufen. Daß auch das Peptonisierungsvermögen eine sehr labile Eigenschaft ist und unter Umständen verloren gehen kann, ist ja bekannt. Interessant ist eine Beobachtung Grassbergers (1907. p. 46). Wurde der Rauschbrandbacillus aus Herzblut des Rauschbrandtieres auf Gelatine übertragen und mittels Gelatineplatten reingezüchtet, so riefen sowohl die primären wie die sekundären und folgenden Kulturen stets Verflüssigung der Gelatine hervor, die mit der Häufigkeit des Umimpfens oft zunahm. Anders, wenn das Impfmaterial durch vorausgegangene längere Züchtung auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten modifiziert war; wurde mit solchem Materiale geimpft, so entstanden entlang dem Impfstrich rundliche, kompakte Kolonieen, Verflüssigung blieb entweder ganz aus, oder sie trat nach mehreren Tagen an einer oder der anderen Stelle auf. Einen allmählich eintretenden Verlust der Eigenschaft, die Gelatine zu verflüssigen, ohne daß jedoch mit diesem Verluste irgendeine andere Eigenschaft verändert wurde, beobachtete Matzuschita (1900) beim Bac. anthracis, welchen er 1½ Jahre hindurch auf 10-proz. Gelatinenährböden bei Zimmertemperatur und jedesmaliger 2—3-monatlicher Abimpfung züchtete. Durch Tierpassage wurde das normale Verflüssigungsvermögen nicht zurückerhalten, jedoch gelang es, diese Eigenschaft wieder herzu-

---

[1]) Störmer beobachtete bei seinem Rösteerreger Plectridium pectinovorum, welcher möglicherweise mit unserem Bac. amylobacter identisch ist (s. Kapitel VI), daß, solange die Kolonieen noch klein waren, die Gelatine absolut nicht verändert wurde, später allerdings trat durch die bekannte Erscheinung, daß aus toten Zellen der Kolonieen proteolytische Fermente in die Umgebung diffundieren, eine Erweichung der die Kolonieen umgebenden Gelatine ein (1904. p. 180).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

stellen, wenn er die Bakterien 4—6mal alle 1—2 Tage auf Agarnährböden abimpfte und bei 37° wachsen ließ; eine derartig gezüchtete Kultur vermochte nach 6 Tagen die Gelatine zu verflüssigen.

Dieselbe Beobachtung machte derselbe Autor beim Bac. fluorescens liquefaciens, welcher gleichsam in einen Bac. fluorescens non liquefaciens umgeändert wurde. Diese Beobachtung am Bac. fluorescens machte auch Löhnis (1905. p. 584). Ueber den Wert der Angaben über Verflüssigung und Nichtverflüssigung der Gelatine als diagnostisches Hilfsmittel siehe auch Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. 4. Aufl. 1907. p. 53, wo sich auch weitere Literaturangaben über diesbezügliche Beobachtungen finden.

4) Gelatine ohne Dextrose.

(Dieselbe Zusammensetzung wie oben, nur Dextrose fehlend.) Auch auf diesem Nährboden kamen alle Stämme unseres Bac. amylobacter zur Entwickelung. Die Entwickelung ist allerdings bedeutend schwächer als auf Gelatine mit Dextrose. Die schon bei letzterem Nährboden beobachtete Erscheinung, daß manchmal ohne erkennbaren Grund die Stichkulturen nicht angingen, trat in Gelatine ohne Dextrose noch häufiger auf. Aber wenn es nur darauf ankam, festzustellen, ob in Gelatine ohne Dextrose überhaupt Entwickelung stattfand, wurden einfach etwas größere Mengen einer jungen Kultur in dem verflüssigten Nährboden verteilt, und es wurde dann stets Wachstum beobachtet[1]. Die Form der Kolonieen längs des Stiches stimmte mit der genau überein, die auf Dextrose-Gelatine gebildet wurde, nur blieben die Kolonieen kleiner, die größten erreichten nach ca. 4-wöchigem Wachstum einen Durchmesser von ca. 0,7 mm. Verflüssigung fand auch auf diesem Nährboden nicht statt.

B. Flüssige Nährböden.

Nährlösungen sind für die Kultur des Bac. amylobacter bei weitem nicht so gut geeignet, wie feste Nährböden. Obgleich in Nährlösungen geeigneter Zusammensetzung das Wachstum ein oft sehr kräftiges ist, ist die Entwickelung doch meist unregelmäßig, oft treten die eigenartigsten Schwellformen auf, auch Mikrooidienzerfall wird sehr häufig beobachtet, auch in solchen Nährlösungen, denen zur Neutralisation der in Nährlösung stets reichlich gebildeten Säure Kreide zugesetzt wurde. Sporenbildung findet in Nährlösung auch statt, aber selbst in solchen Lösungen, in denen das Wachstum an sich kräftig ist, oft unvollkommen und unregelmäßig.

Hinsichtlich der gebotenen, zur Entwickelung nötigen Nahrungsstoffe ist unser Bac. amylobacter nicht sehr anspruchsvoll. Was zunächst die Stickstoffverbindungen anbelangt, so ist er nicht sehr wählerisch, da er in fast stickstofffreier, geeignete Kohlenstoffnahrung enthaltender Nährlösung zu gedeihen vermag. Wir kultivierten ihn zum Zwecke des analytischen Nachweises seiner Stickstoff-Assimilationsfähigkeit in der Winogradskyschen Nährlösung, die nicht sorgfältig von Stickstoffverbindungen befreit war und noch 0,0006 Proz. N enthielt. Daß der Bac. amylobacter auch in absolut stickstofffreier Nährlösung wachsen kann, ist aus den Winogradskyschen Untersuchungen bekannt. Wie im folgenden Kapitel — Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs — des näheren auseinandergesetzt wird, ist diese Fähigkeit des Bac. amylobacter, in stickstofffreier bezw. -armer Nährlösung zu gedeihen, eine sehr labile Eigenschaft, welche er leicht verliert. Geringe Mengen gebundenen Stickstoffs genügen dann aber schon, um ihn zum Wachsen zu bringen. Er bevorzugt dabei scheinbar anorganische Stickstoffverbindungen, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat bewährten sich sehr gut, organische — Pepton, Asparagin — waren von unsicherer Wirkung, es war dann meist ein Zusatz größerer Mengen erforderlich, etwa 0,5 Proz. Sehr gut bewährte sich auch Fleischextrakt. In der Nährlösung I nach Arthur Meyer (Pepton, Fleischextrakt, Rohrzucker āā 1,0, Wasser 100) ist sein Wachstum, d. h. seine quantitative Vermehrung vorzüglich, es finden sich in dieser jedoch sehr häufig anormale Formen, auch in solchen Nährlösungen, denen zur Abstumpfung der Säure Kreide zugesetzt war.

---

[1] Nach Grassberger und Schattenfroh ist der „bewegliche Buttersäurebacillus vom Typus Amylobacter“, der höchstwahrscheinlich mit unserem Bac. amylobacter identisch sein dürfte, auf zuckerfreiem Gelatinenährboden nicht zum Wachstum zu bringen.

Meine Untersuchungen zeigten, daß aus Nitrat kein Nitrit gebildet wurde (1,0 Dextrose, 100 mineral. Nährlösung, 0,3 Ammonnitrat); aus Pepton entstand kein Ammoniak (Pepton, Dextrose āā 2,0, Wasser 100); auch das Kaseingerinnsel der Milch (siehe Kapitel V, Chemischer Teil) blieb bei der Gärung anscheinend unverändert[1]).

Was nun die Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen anbelangt, so ist dies der Punkt, der wohl mit am meisten Veranlassung dazu gegeben hat, immer neue Species aufzustellen. So entstanden die „Species“:

„Granulobacter butylicum Beijerinck, das Butylferment vieler Getreidearten“,
„Granulobacter saccharobutyricum Beijerinck, das echte Buttersäureferment des Zuckers“,
„Granulobacter lactobutyricum Beijerinck, das Buttersäureferment des Calciumlaktates“,
„Bacillus saccharobutyricus v. Klecki“
und andere.

In nachstehender Zusammenstellung seien einige Angaben über die Vergärbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen wiedergegeben, wie sie sich in der Literatur über die verschiedenen hierher gehörenden Vertreter finden, die ich zum Teil selbst in Händen hatte und als mit dem Bac. amylobacter identisch fand, und die zum Teil, soweit man aus den Literaturangaben schließen kann, wahrscheinlich auch nichts anderes sein werden als Bac. amylobacter.

(Siehe Tabelle p. 468.)

Vergleichen wir die Angaben, welche über diese einzelnen Vertreter gemacht sind, miteinander, so stellen sich anscheinend in der Tat nicht unerhebliche Unterschiede heraus. Sehen wir uns aber die Verhältnisse etwas näher an und prüfen wir diese Angaben über die sogenannte „Fähigkeit“ der Vergärung der einen oder anderen Kohlenstoffquelle auf ihren diagnostischen Wert hin. Da finden wir z. B. beim Winogradskyschen Stamme: „In Gegenwart von Pepton werden vergärt: Dextrose

---

[1]) Der „bewegliche Buttersäurebacillus“ bildet nach Grassberger und Schattenfroh keine peptonisierenden Enzyme, ließ ebenfalls das Kaseingerinnsel der Milch dauernd unverändert und griff auf festen Nährböden Eiweißkörper „nicht tiefgreifend“ an.

	Literaturangaben über Stämme, die wir in Händen hatten und die sich als mit unserem Bac. amylobacter identisch erwiesen haben								Literaturangaben über Stämme, welche wir nicht in Händen hatten, die aber vielleicht mit unserem B. amylobacter identisch sein werden			
	Winogradskys Clostridium Pasteurianum. Sauerstofffreier Raum bei 30°		Pringsheims Clostridium americanum			Beijerinck und van Deldens Granulobacter pectinovorum mit Pepton oder Fleischbouillon oder Eiweiß (nicht mit Ammoniak)	Haselhoff und Bredemanns Clostrid. α in N-freier Nährlösung im U-förmigen Gärungsröhrchen	Haselhoff und Bredemanns Clostrid. β in N-freier Nährlösung im U-förmigen Gärungsröhrchen	Grassberger und Schattenfrohs beweglicher Buttersäurebacillus. Peptonbouillon	Grassberger und Schattenfrohs unbeweglicher Buttersäurebacillus[1]). Peptonbouillon	Grimberts Bac. orthobutyric. Mineral. Nährlösung + 0,02 Proz. Kaliumnitrat, 0,25 Proz. Pepton, 3—5 Proz. Zucker	Störmers Plectridium pectinovorum bei Gegenwart von Pepton unter Sauerstoffabschluß
	mit Pepton	mit Ammonsulfat	mit Pepton in Wasserstoffatmosphäre	mit Pepton in Tiefenkultur	mit Ammonsulfat in Tiefenkultur							
Arabinose	—	—					+	+			+	+
Xylose												+
Dextrose	+	+ [2])	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	+	—	+			+	+	+		+	+	+
Lävulose	+	—	+			+	+	+	+	+		
Rohrzucker	+	+	+	+	+		+	—	+	+	+	+
Milchzucker	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Maltose			+			+	+	+		+	+	+
Melitose							+					
Stärke	—	—		+	+		+	+	+	+	+	+
Inulin	+	+					+	+			+	
Dextrin	+	—		+	—		+	+			+	+
Gummi	—	—									—	—
Glyzerin	—	—	+	—	—		—	+	+	+	+	—
Mannit	—	—	+	+	+		+	+	—	—	+	
Dulzit	—	—										
Milchsaurer Kalk	—	—	—					—	—	—	—	
Weinsaurer Kalk										—	—	
Cellulose									—		—	—
Pektine und Pektinsäuren												+

---

[1]) Manchmal etwas schwer und nicht konstant.

[2]) Zweifelhaft, ob mit Bac. amylobacter identisch.

Rohrzucker, Lävulose, Inulin, Galaktose und Dextrin; in Gegenwart von Ammon als einzigster N-Quelle wurden von allen diesen Körpern nur Dextrose, Rohrzucker und Inulin angegriffen.“ Also das Verhalten gegen die verschiedenen Kohlenhydratquellen ist sehr verschieden, je nachdem Pepton oder Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle gereicht wurde. Dasselbe Verhalten finden wir beim Pringsheimschen Clostridium americanum angegeben: Dextrin wurde in Tiefenkultur bei Zusatz von Pepton vergoren, bei Zusatz von Ammonsulfat nicht. Auch die Art der Kultur soll von Einfluß sein: „Clostridium americanum“ soll in Wasserstoffatmosphäre bei Gegenwart von Pepton Glyzerin vergären, in „Tiefenkultur“ unter sonst gleichen Bedingungen nicht. Auf einen Widerspruch in den Fribesschen Angaben über seinen Rösteerreger, der ausschließlich bei Gegenwart von Pepton die einfachen Kohlenhydrate wie Glukose etc., die komplizierteren Pektinkörper dagegen schon bei Ernährung mit mineralischem Stickstoff zu vergären vermochte, machte bereits Behrens (1902) aufmerksam (siehe auch Störmer (1904. p. 307). Ich möchte wohl annehmen, daß diese oft widersprechenden Angaben darauf zurückzuführen sind, daß mit der betreffenden Nährlösung nur eine kleine Anzahl von Versuchen angestellt wurden, Angaben über Wiederholungen der Versuche finden sich auch nirgends¹). Wer sich mit der Kultivierung des Bac. amylobacter beschäftigt hat, weiß, daß besonders in Nährlösung trotz Verwendung gleichen Impfmateriales und unter Innehaltung genau gleicher Bedingungen, also in Parallelreihen, das Wachstum oft aus irgendwelchen unbekannten Gründen ausbleibt. Ich habe unzählige Male, deren einzelne Aufzählung hier unterbleiben soll, die Beobachtung machen können, daß bei der Prüfung auf Verwertbarkeit verschiedener Kohlenstoffquellen dieselbe Lösung trotz Impfung mit gleichem Materiale in 10 und mehr Fällen hintereinander völlig steril blieb, bis dann plötzlich einmal bei einem Versuch lebhaftes Wachstum und lebhafte Gärung eintrat²). Wenn ich nun dachte, es sei möglich, mit diesem selben gärenden Materiale wieder neue Nährlösung derselben Zusammensetzung konstant von neuem zur Gärung zu bringen, so zeigte sich, daß auch dann der Erfolg kein wesentlich anderer war. Kleinere Impfungen führten selten, größere bisweilen zum Ziele, während durch sehr große Impfmengen — etwa einige Kubikzentimeter — allerdings eine Gärung immer zustande kam. Dieses Verhalten wird wohl an den sich vielfach widersprechenden Literaturangaben über die Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen mit die größte Schuld tragen.

Ferner: Was heißt „mit Pepton“, „mit Ammon“? Wieviel Pepton, wieviel Ammon? Daß uns solche Angaben für diagnostische vergleichende Zwecke gar nichts nützen, geht sehr schön aus einer kürzlichen Mitteilung Pringsheims hervor (1908). Er leitete die „Vergärung von Kohlenstoffquellen, die allein schlecht dazu geeignet sind, Clostridien zum Wachstum zu verhelfen“, dadurch ein, daß er der stickstofffreien Nährlösung geringe Mengen gebundenen Stickstoffs in Form von Ammonsulfat zusetzte, auf diese Weise konnte er Stärke zur Bindung des freien Stickstoffs verwenden. Er sagt dann weiter, „Mannit, das in Gegenwart

---

1) Nur Störmer schreibt: „Nach mehrfachen Prüfungen wurden . . . vergoren“ (1904. p. 307).

2) Störmers Plectridium pectinovorum, welcher wahrscheinlich ebenso wie der Fribesche Bacillus mit unserem Bac. amylobacter identisch ist, vergärte „nach mehreren Prüfungen . . . . einmal selbst Xylose“ (1904. p. 307).

von reichlich gebundenem Stickstoff leicht zu vergären ist, konnte ich unter solchen Bedingungen, d. h. unter Zusatz ungenügender Mengen von Ammonsulfat nur einmal zur Vergärung bringen, und beim Milchzucker war auf diese Weise kein Resultat zu erzielen.“

Man sieht demnach, daß man auf die bezüglichen Angaben in der Literatur wenig Wert legen kann. Will man diese Versuche unter dem Gesichtspunkte, sie als diagnostische Angaben zu verwenden, machen, so kommt es vorzüglich darauf an, daß man diese Versuche genügend häufig wiederholt, ferner ist es wichtig, immer möglichst gleiche, nicht zu geringe Quantitäten Impfmaterial, welches sich immer im möglichst gleichen Entwickelungsstadium befinden muß, zu verwenden, und endlich kommt es darauf an, die Versuche längere Zeit stehen zu lassen, da es den Bakterien oft erst nach Wochen gelingt, die Kohlenstoffquellen anzugreifen. 2 Beispiele: 2 Kolben, enthaltend je 500 ccm Nährlösung, bestehend aus Rohzucker 10,0, mineral. Nährlösung 500,0, Kreide 2,5 wurden am 13. März mit je ca. 1 ccm einer gärenden Kultur des Stammes 84 in stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung beimpft. Beide Lösungen blieben — 28° C — anfänglich völlig steril, nach 14 Tagen begann bei der einen die Gärung und wurde nach weiteren 8 Tagen ziemlich stürmisch, während im zweiten Kolben nicht die geringsten Anzeichen von Leben zu bemerken waren, erst nach $5^1/_2$ wöchigem ruhigen Stehen begann auch hier die Gärung, die dann ebenfalls ziemlich stürmisch verlief. Dieselben Verhältnisse kann man in Nährlösungen beobachten, die Glyzerin oder Stärke enthalten[1]).

Erwähnt muß auch noch eine Angabe Pringsheims aus neuester Zeit werden (1908). Er zeigte, daß manchmal schwer zu vergärende Kohlenstoffquellen dadurch zur völligen Vergärung zu bringen waren, daß er solchen Nährlösungen eine geringe Menge Traubenzucker zusetzte, welche den Bakterien zum anfänglichen Wachstum verhalf, so daß dann die ganze zu prüfende Kohlenstoffquelle ausgenützt wurde.

Noch einen weiteren Punkt möchte ich hier kurz streifen, nämlich den der Angreifbarkeit des Calciumlaktates. Beijerinck (1893) unterscheidet bekanntlich das Buttersäureferment des Zuckers (Granulobacter saccharobutyricum) und das Buttersäureferment des Calciumlaktates (Granulobacter lactobutyricum). Die von ihm gegebene kurze Diagnostik läßt nach unseren jetzigen Kenntnissen von dieser Organismengruppe keinen wesentlichen Unterschied zwischen beiden erkennen. Granulobacter lactobutyricum ist nach Beijerinck hauptsächlich dadurch charakterisiert, daß die Clostridien gewöhnlich sehr kurz und dick sind, nicht schnell, sondern langsam beweglich, die in den Clostridien enthaltenen Sporen sind klein und mehr rund als die beim Butylferment. Jod färbt nicht rein blau, sondern violettblau. Alle diese Unterschiede können sehr wohl durch die verschiedenen Ernährungsbedingungen — Calciumlaktat statt Dextrose bezw. statt Würze — hervorgerufen sein, und die Vermutung liegt nahe, daß beide Formen identisch sind. Beijerinck beobachtete übrigens, daß seine Calciumlaktat vergärenden Stämme eine fortgesetzte Ueberimpfung in Calciumlaktat nicht vertrugen und bald zugrunde gingen.

Daß die gewöhnlichen Stämme auch Calciumlaktat zu vergären imstande sind, läßt sich mit einiger Sicherheit wohl daraus entnehmen, daß die gleichen Erden auch Gärungen in Laktat veranlaßten und die Morphologie der hier entstehenden Bakterien nicht verschieden war von der meiner übrigen Bac. amylobacter-Stämme. Einige von diesen riefen übrigens auch in Reinkultur Gärung in Laktatlösung hervor (Calciumlaktat 1,0, Pepton 0,3, Wasser 100,0). Bei einem Versuche hatte der Stamm 56 (Kamerun), der sich überhaupt als sehr vielseitig erwiesen hat, nach 4 Tagen 0,8 ccm, nach 4 Wochen im ganzen 4,0 ccm Gas gebildet (Gärungsröhrchen bei 28° C); der Stamm 84 (von einem Termitenhaufen, Indien) bildete dasselbe Quantum unter den gleichen Verhältnissen schon nach 10 Tagen. Andere Stämme ließen Calciumlaktat völlig unangegriffen. Es scheint auch die Eigenschaft der Laktatvergärung eine von denjenigen zu sein, welche verhältnismäßig labil ist, Versuche über die Frage habe ich nicht weiter gemacht, aber es wird auch hier wohl auf eine Gewöhnung an die Kultivierungsbedingungen ankommen.

---

[1]) Vergl. auch p. 402; in Rohkultur wurden alle geprüften C-Quellen stets glatt vergoren.

5. Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperatur und hohen Sauerstoffdruck.

a) Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperatur (80° und 100° C).

Bezüglich der Methode der Bestimmung der Tötungszeit der Sporen bei 100° und 80° C sei auf das Kap. II p. 410 verwiesen.

Die Resultate der Sporentötungsversuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt, + bedeutet Entwickelung, — keine Entwickelung, also abgetötet.

(Siehe Tabelle p. 472.)

Ein endgültiger Schluß auf die maximale Sporentötungszeit des Bac. amylobacter läßt sich trotz der zahlreichen — über 400 — Sporentötungsversuche aus den erhaltenen Resultaten nicht ziehen. Die Tabelle zeigt, daß die maximale Tötungszeit der Sporen bei 100° C höchstens 5 Minuten beträgt[1]), die maximale Tötungszeit bei 80° C ist mit 60 Minuten noch nicht erreicht worden, da keine Versuche mit längerer Erhitzungsdauer angestellt wurden, läßt sie sich nicht näher angeben.

Ebenso wie beim Bac. asterosporus, deren maximale Tötungszeiten zwischen 2—3 Minuten und zwischen 16—18 Minuten bei 100° C schwankten (s. Bredemann, 1908, p. 77), geben auch diese Untersuchungen mit den verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter sehr verschiedene Resultate. Hinsichtlich des Bac. asterosporus habe ich die Meinung ausgesprochen, daß es allerdings nicht direkt abzuweisen sei, daß die niedrigen Tötungszeiten durch die Vorbehandlung der betreffenden Stämme zustande gekommen seien, daß aber doch zu beachten sei, daß alle diese Stämme direkt aus Erde gezüchtet sind. Hier beim Bac. amylobacter liegen die Verhältnisse ähnlich, aber doch etwas anders. Die Sporentötungsversuche am Bac. asterosporus wurden während eines Zeitraumes von ca. 1/2 Jahr angestellt, während sich die hier mitgeteilten Sporentötungsversuche am Bac. amylobacter über einen Zeitraum von ca. 3 Jahren — 1906, 1907, 1908 — erstrecken. Es war also das Material beim Bac. asterosporus ohne Frage einheitlicher, d. h. die verschiedenen Stämme, die bis dahin immer ziemlich gleichmäßig gezüchtet waren, waren zur Zeit der Sporentötungsversuche gleichmäßig kräftig. Wenn trotzdem die Be-

---

[1]) Auch v. Hibler (1908. p. 220) beobachtete bei aus Pankreasgewebe einer Ratte, aus Schlamm und aus Dünger gezüchteten drei Stämmen seines „B. amylobacter" eine maximale Tötungszeit von 5 Minuten bei 100°.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

	Stamm 17 a. Buitenzorg	Stamm 17 b. Buitenzorg	Stamm 54. Brandenburg	Stamm 56. Kamerun	Stamm 57. Kamerun	Stamm 68. Deutsch-Ostafrika	Stamm 71. Ostindien	Stamm 76. Illinois U. S. A.	Stamm 78. Brandenburg	Stamm 80. Husum	Stamm 83. Marburg	Stamm 84. Ostindien	Stamm 92. Kiautschou	Stamm 119. Norwegen	Stamm 127. Marburg	Stamm A („Clostridium Pasteurianum“)	Stamm B („Clostridium americanum“)	Stamm C („Clostridium α“)	Stamm D („Clostridium β“)	Stamm E (B. amylobacter I Gruber“)	Stamm F („B. saccharobutyric.“)	Stamm G („Gasphlegmone“)	Stamm H („Granulobacter butylic.“)	Stamm J („Granulob. pectinovorum“)	Stamm K (aus altem Schabzieger)	Stamm L (aus jungem Schabzieger)
5 Min. 80° C	+ + − + + + −	+ +	+ +	+ +	+ +	+ + +	− +	+ + +	+ + + + + +	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ + +	+ +	+ + +	+ + +	+ + + + +	+ + + + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 Min. 80° C	+ + −	+	+ +		− +	− +	− − − +	− +	+ + − + +	− − − −	− + −	+ + + +	− +	+ + + +	+ + +	− + + + +	+		− + − + +	− − +	− +	−	+ +	+ +	+ +	+ +
15 Min. 80° C	− + − − −	+	− +	+ +	+ −	− +	− − −	+ +	− + + −	−	− − − − +	− + − +	− + +	+ + +	+ + +	− + − +	− − −	− − + − +	− + − − +	− − +	+ −	− +	+ +	+	+ −	+ +
20 Min. 80° C	−			−		−	−	+			−	+	+	+	−	+			−	− +	− −		+ +	− +	+ +	+ +
30 Min. 80° C			− +		− −	− −			+ −	−	−	− + −	−		+ −	+ + +	−			+ + +	− +		+ −	+ − +	+	+ +
45 Min. 80° C			−		−	−	−		+		−	− + −	−		− −	+ + +				− −	−		−	+ − +	+	+ +
60 Min. 80° C			− + −			−	− −		+ −		−	− + −	−			+ − +				− − +	− −		− +	+ − +	−	−
1 Min. 100° C	− − −		+ −	−	−	− − +	− − −	− +	− − − + − +	−	− − − −	− − + + +	− −	− − − + +	− − − − −	− − − + +	− −	−	− −	− − +	− +	−	− + −	− + − −	− −	+
2 Min. 100° C			−			−	−				−	− −	−			−				−	−		−	+ −	−	−
3 Min. 100° C			−			−			+			+				−				−				+	−	−
5 Min. 100° C			+			−			−			− −				− −				−	− −		−	+		
10 Min. 100° C			−			−			−			−				−				−	−		−	−		

stimmung der Tötungszeiten beim Bac. asterosporus so verschiedene Resultate ergab, so beweist das, daß dieselbe bei dieser Species als sehr variabel betrachtet werden muß. Ob das beim Bac. amylobacter auch der Fall ist, erscheint noch fraglich, denn bei den hier mitgeteilten Sporentötungsversuchen dieser Species sind die großen Unterschiede ohne Frage zum Teil mit darauf zurückzuführen, daß, da sich die Versuche, wie erwähnt, über 3 Jahre erstreckten, das Material nicht genügend gleichmäßig war. Wie aus folgender Zusammenstellung von an drei Stämmen in den Jahren 1906, 1907 und 1908 angestellten Sporentötungsversuchen hervorgeht, hat es den Anschein, als seien die Stämme im Laufe dieser Jahre widerstandsfähiger geworden, sei es durch Auslese der widerstandsfähigsten Sporen — jedesmaliges Erhitzen vor dem Umimpfen — sei es durch Gewöhnung an den Nährboden.

Stamm 84 (Ostindien)

		1906	1907	1908
15 Min.	80° C	— — —		+
30 „	80° „		—	+ —
45 „	80° „		—	+ —
60 „	80° „		—	+ —
1 „	100° „	— —		+ +
2 „	100° „		—	+

Stamm A („Clostridium Pasteurianum").

		1906	1907	1908
10 Min.	80° C	— +	+	+ +
15 „	80° „	— +		— +
30 „	80° „			+ + +
1 „	100° „		— —	— + +

Stamm E („Bac. amylobacter I Gruber").

		1906	1907	1908
10 Min.	80° C	—	—	+
15 „	80° „	—	—	+
20 „	80° „		—	+
30 „	80° „			+ + +

Daher ist es nicht unmöglich, daß die niedrigen Maxima, welche für die Stämme 17a, 57, 68, 71, 80, 83 und B gefunden wurden, nicht mehr zu Recht bestehen, denn diese Bestimmungen wurden während der Jahre 1906 und 1907 ausgeführt. Bei den Stämmen 54, 78, 84, A, E, F, H, J, K und L wurden die Sporentötungsversuche von 30 Min. bei 80° C, resp. 2 Min. bei 100° C an aufwärts erst im Jahre 1908 ausgeführt, und es ist auffällig, daß bei allen diesen das Maximum verhältnismäßig hoch, wenn auch nicht bei allen gleich hoch liegt. Ueber einige Stämme (17b, 56, 76, C, D, G), bei denen die Versuche nicht weit genug fortgesetzt wurden, läßt sich nichts sagen.

Wenn so auch diese mühsamen Untersuchungen, zu deren völliger Klärung eine weitere große Anzahl von Versuchen nötig gewesen wäre, aus genannten Gründen nicht zu einem völlig eindeutigen Ergebnis geführt haben, so geht doch das aus ihnen hervor, daß sich alle untersuchten Stämme auch hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen wesentlich gleich verhalten, jedenfalls bewegen sich die — vielleicht, wie gesagt, zum Teil auf Verschiedenheit des Materiales beruhenden — Schwankungen durchaus innerhalb der Variationsbreiten, die für eine Species möglich sind (vergl. Bac. asterosporus).

Gleichzeitig zeigen die Untersuchungen wieder, daß die Aufstellung der Diagnose einer Species nur auf Grundlage einer sehr großen Anzahl von Versuchen möglich ist.

b) Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen höhere Sauerstoffspannung.

In der ersten Zeit meiner Versuche bin ich stets ängstlich bemüht gewesen, meine Vorratskulturen vor dem Zutritt der Luft zu schützen, denn Grassberger und Schattenfroh wollten die Beobachtung gemacht haben, daß Kulturen ihres „beweglichen Buttersäurebacillus“, der, wie gesagt, mit unserem Bac. amylobacter wahrscheinlich auch identisch ist, meist bald zugrunde gingen, besonders wenn nicht für exakten Abschluß der Luft gesorgt war, selbst dann, wenn Sporen vorhanden waren (1902, p. 219). Diese Sorgfalt der Aufbewahrung erwies sich bald als unnötig, selbst ganz altes Sporenmaterial, welches von bereits völlig eingetrockneten Agarschrägkulturen abgekratzt worden war, erwies sich noch als vollständig lebensfähig.

Es erschien daher interessant, die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Sauerstoff zu untersuchen, einmal aus prinzipiellen Gründen und dann auch wieder zu dem Zwecke, der bei allen bisherigen Versuchen im Vordergrund stand, eine möglichst eingehende nach den verschiedensten Richtungen hin ausgedehnte Vergleichung der verschiedenen Stämme zu erbringen.

Die Versuche wurden gemacht.

Versuch I (mit 5505 mg Sauerstoff im Liter = 20 Atm. kompr. Luft).

Mehrere Röhrchen, welche auf schräger D-Agarfläche kräftige aus Sporen bestehende Beläge hatten und bis dahin im Vakuum bei 1 mg Sauerstoff im Liter aufbewahrt waren, blieben zunächst 3 Tage zur Austrocknung der Agaroberfläche an der Luft bei 28° liegen und wurden dann in den Druckapparat (s. Kap. II, p. 422) eingesetzt. Der Apparat wurde auf einen Druck von 20 Atm. kompr. Luft (= 5505 mg Sauerstoff im im Liter bei 28°) eingestellt und blieb während der Dauer des Versuches bei diesem Drucke und der konstanten Temperatur von 28° stehen.

Gleichzeitig bei diesen Versuchen sollte geprüft werden, ob sich durch die Einwirkung der hohen Sauerstoffspannung die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen ändern würde.

Der Apparat wurde geöffnet nach 140, 290 und 720 Stunden. Es wurde dann von der Oberfläche der Röhrchen eine Spur des Sporenmaterials entnommen, in Wasser aufgeschwemmt und mit diesem in der früher genannten Weise (Kap. II) Sporentötungsversuche ausgeführt. Der Druckraum wurde sofort nach Entnahme der Proben wieder auf den früheren Druck eingestellt. Die Resultate dieses Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Siehe Tabelle p. 475.)

Der Versuch ergibt zunächst die interessante Tatsache, daß die einen Monat währende Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration von 5505 mg O im Liter auf die Sporen aller untersuchten Stämme keinen schädigenden Einfluß ausgeübt hat, alle Stämme sind trotz derselben lebensfähig geblieben. Die Resultate der Erhitzungsversuche mit diesen Sporen erwecken sogar den Anschein, als sei die Widerstandsfähigkeit

Zum Versuch benutzte Stämme des Bac. amylobacter	Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen bei Beginn des Versuches				Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen nach einer Einwirkung von 20 Atm. kompr. Luft = 5505 mg Sauerstoff im Liter während der Dauer von													
					140 Std.				290 Std.				720 Std.					
	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	20 Min. 80°	1 Min. 100°	1 Min. 100°
Stamm 78. Brandenburg (6 Monate altes Sporenmaterial)	+	+	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	—	+	—
Stamm 83. Marburg (6 Monate altes Sporenmaterial)	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—
Stamm 84. Indien (3 Monate altes Sporenmaterial)	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+	—
Stamm 119. Norwegen (3 Monate altes Sporenmaterial)	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Stamm 127. Marburg (6 Monate altes Sporenmaterial)	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—

der Sporen gegen hohe Temperatur durch die Einwirkung der hohen Sauerstoffspannung bei einigen Stämmen (78, 83, 84, 119) sogar vergrößert worden. Man muß allerdings berücksichtigen, daß die Tötungszeit im allgemeinen nicht durch einen einzigsten Versuch sicher festzulegen ist (s. oben).

Derselbe Versuch mit 5505 mg Sauerstoff im Liter wurde ferner an folgenden Stämmen und mit folgendem Resultat ausgeführt; bei diesem Versuche wurde keine Rücksicht auf die Frage genommen, ob die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen durch die Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration verändert wurde, sondern die den verschiedenen Röhrchen beim jeweiligen Oeffnen des Druckraumes entnommenen Sporen wurden direkt, ohne daß sie vorher erhitzt wurden, auf neuen D-Agar übertragen und dann ins Vakuum gestellt.

	Die Sporen sind noch lebensfähig (+) bezw. nicht mehr lebensfähig (—) nach einer Einwirkung von 20 Atm. kompr. Luft = 5505 mg Sauerstoff im Liter während der Dauer von		
	7 Wochen (11. Febr. bis 3. April)	ca. 4 Monaten (11. Febr. bis 3. Juni)	ca. 6 Monaten (11. Febr. bis 11. Aug.)
Stamm A („Clostr. pasteurian.")	+	+	+
„ B („Clostr. american.")	+	+	+ 1)
„ D („Clostr. β")	+	+	+ 1)
„ E (B. amylobacter I Gruber)	+	+	+
„ F („B. saccharobutyr.")	+ 1)	+	+
„ G („Gasphlegmone")	+	+	+ 1)
„ H („Granul. butylic.")	+	+	+
„ J (Granul. pectinovorum)	+ 1)	+	+ 1)
„ L (a. jungem Schabzieger)	+	+	+

Also sogar nachdem die Sporen $^1/_2$ Jahr bei 20 Atm. kompr. Luft verweilt hatten, hatten sie ihre Lebensfähigkeit noch nicht eingebüßt,

---

1) Entwickelung von Mikrooidien.

und es ist interessant, daß sich alle Stämme auch hier wieder gleich verhalten.

Um die oben angeschnittene Frage, ob die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen durch die Einwirkung von hohen Sauerstoffkonzentrationen verändert würde, nochmals zu untersuchen und um gleichzeitig die Grenze der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Sauerstoffkonzentration festzustellen (die Sporentötungszeit durch hohe Sauerstoffspannung) wurde der Versuch nochmals wiederholt und zwar mit der doppelten Sauerstoffkonzentration.

Versuch II (mit 11210 mg Sauerstoff im Liter = 8 Atm. kompr. Sauerstoff).

Da der Druckraum nur bis 25 Atm. geeicht ist, wurde diesmal mit kompr. Sauerstoff gearbeitet. Derselbe enthielt 96,7 Proz. O, 1,2 Proz. CO^2 und 2,1 Proz. N (nicht absorbierte Gase). Der Druckraum wurde auf einen Ueberdruck von 8 Atm. (= ca. 40 Atm. Luft) gebracht, was bei einer Temperatur von 28° einem Gehalt von 11210 mg O im Liter entspricht (s. Arth. Meyer, 1906, p. 398). Temperatur während des Versuches 28°. Die Resultate ergeben sich aus folgender Zusammenstellung:

Zum Versuch benutzte Stämme des Bac. amylobacter	Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen bei Beginn des Versuches				Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen nach einer Einwirkung von 8 Atm. kompr. Sauerstoff = 11210 mg Sauerstoff im Liter während der Dauer von											
					10 Tagen				24 Tagen				55 Tagen			
	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 90°	15 Min. 80°	1 Min. 100°	5 Min. 80°	10 Min. 80°	15 Min 80°	1 Min. 100°
Stamm 78. Brandenburg	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—
„ 83. Marburg	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 84. Indien	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+	+	—
„ 119. Norwegen	+	+	+	-	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—
„ B („Clostr. american.“)	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—
„ E („B. amylobact. I“ Gruber)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Also auch hier ist trotz der 55 Tage währenden Einwirkung der hohen Sauerstoffspannung von 11210 mg O im Liter keine Schädigung der Sporen des Bac. amylobacter bemerkbar. Eine Ausnahme macht anscheinend Stamm 83, bei dem nach 24-tägiger Einwirkung keine Weiterentwickelung der überimpften Sporen mehr stattfand und Stamm E, bei dem die Sporen schon nach 10-tägiger Einwirkung eine Erhitzung von 5 Minuten auf 80° nicht mehr vertrugen. In beiden Fällen handelt es sich aber um anscheinend von vorneherein irgendwie geschwächte Sporen, wie aus der geringen Widerstandsfähigkeit derselben gegen Erhitzen — 5 Minuten auf 80° — hervorgeht, während sonst der Stamm 83 bei anderen Versuchen (s. p. 472) bei 15 Minuten und der Stamm E sogar bis 60 Minuten vertragen konnte.

Was die beim Versuch I durch die Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration anscheinend erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Er-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

hitzen anbelangt, so scheint dieselbe auch bei diesem Versuche wieder hervorzutreten, mit Ausnahme der geschwächten Stämme 83 und E. Ich betrachte jedoch die hier in Rede stehende Frage nicht als entschieden.

Nachdem so die Grenze der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Sauerstoffkonzentration mit 11210 mg O im Liter noch nicht erreicht war, wurde ein dritter Versuch angesetzt.

Versuch III (mit 26390 mg Sauerstoff im Liter = 20 Atm. kompr. Sauerstoff).

Die Anordnung des Versuches war genau dieselbe, wie bei den vorhergehenden, nur wurde der Versuch nicht bei konstanter Temperatur von 28°, sondern bei Zimmertemperatur (ca. 18° C) durchgeführt.

Die Resultate sind folgende:

	Die Sporen sind noch lebensfähig[1] (+) bezw. nicht mehr lebensfähig (—) nach einer Einwirkung von 20 Atm. kompr. Sauerstoff = 26390 mg Sauerstoff im Liter während der Dauer von	
	7 Wochen (11. Aug. bis 29. Sept.)	15 Wochen (11. Aug. bis 23. Nov.)
Stamm 54. Brandenburg	+	+
„ 57. Kamerun	+	+
„ 68. Ostafrika	+	+
„ 71. Indien	+	+
„ A („Clostr. Pasteurian.“)	+	+
„ B („Clostr. american.“)	+	+
„ C („Clostr. α“)	+	+
„ D („Clostr. β“)	+	+
„ E („B. amylobacter I“ Gruber)	+	+
„ F („B. saccharobutyr.“)	+	+
„ J („Granul. pectinovor.“)	+	+

Wir stehen somit vor der außerordentlich interessanten Tatsache, daß die Tötungszeit der Sporen unseres Bac. amylobacter durch eine 15-wöchige Einwirkung einer Sauerstoffspannung von 26390 mg O im Liter = 20 Atm. kompr. Sauerstoff noch nicht erreicht ist.

Diese Tatsache ist um so interessanter, als sie zeigt, daß zwischen dem Maximum der Sauerstoffspannung für das Wachstum (Keimung, Oidienwachstum und Sporenbildung) einer Species und der Tötungszeit bei hohen Sauerstoffspannungen kein Zusammenhang zu bestehen braucht, wie man vielleicht anzunehmen geneigt sein könnte.

Dies zeigt eine Vergleichung der Maxima der Sauerstoffkonzentration für die Sporenkeimung und der Tötungszeiten bei hohen Sauerstoffkonzentrationen zwischen den Species Bac. amylobacter und Bac. asterosporus (Bredemann 1908, p. 69) sehr gut:

Maximum der O-Spannung für die Sporenkeimung.

Bei Bac. amylobacter: ca. 30 mg O im Liter.
Bei Bac. asterosporus: nicht viel über 5505 mg O im Liter.

Tötungszeit bei hoher O-Konzentration.

Bei Bac. amylobacter: durch 15-wöchige Einwirkung von 26390 mg O im Liter bei allen Stämmen noch nicht erreicht.

Bei Bac. asterosporus: durch 7-wöchige Einwirkung von 5505 mg O im Liter bei einigen Stämmen bereits erreicht.

---

[1] Die Sporen wurden vor der Ueberimpfung auf neuen D-Agar nicht erhitzt.

Kapitel IV.

Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch Bac. amylobacter A. M. et Bred.

1. Einleitung.

Zum endgültigen Beweise der Identität aller Stämme war noch ein sehr wesentlicher Punkt zu berücksichtigen: die für einige der untersuchten Stämme bekannte Fähigkeit der Bindung des freien atmosphärischen Stickstoffs. Von einer wirklichen Identität aller Stämme untereinander konnte erst dann die Rede sein, wenn auch der Nachweis dieser Fähigkeit für alle Stämme erbracht wurde.

In der Tat ist der Nachweis gelungen, daß alle untersuchten Stämme, auch die, die in der Literatur unter den Namen Bac. amylobacter I Gruber, Bac. saccharobutyricus v. Klecki, Granulobacter butylicum Beijerinck, Granulobacter pectinovorum Beijerinck und van Delden, Buttersäurebacillus aus altem und Buttersäurebacillus aus jungem Schabzieger v. Freudenreich und Jensen, Gasphlegmonebacillus bislang als selbständige Species in der Literatur angesehen wurden, die Fähigkeit der Assimilation des freien atmosphärischen Stickstoffs in genau derselben Weise besitzen, wie derjenige Stamm, an dem diese interessante Tatsache zum ersten Male von Winogradsky nachgewiesen wurde („Clostridium Pasteurianum") und wie die Stämme „Clostridium α" und „Clostridium β" sowie „Clostridium americanum", an denen Haselhoff und Bredemann und Pringsheim dieselbe Fähigkeit feststellten und die wir alle ebenfalls zu unseren vergleichenden Untersuchungen in Händen hatten. Allerdings muß bemerkt werden, daß die ersterwähnten alten Stämme dieses Stickstoffbindungsvermögen nicht ohne weiteres erkennen ließen, sondern erst nach geeigneter Vorbehandlung, aber auch darin unterschieden sie sich in nichts von den bislang bekannten „N-bindenden Clostridien", denn auch die Originalstämme dieser zeigten ihre Assimilationsfähigkeit nicht mehr und übten sie erst aus, nachdem sie, ebenso wie die übrigen Stämme, wieder „gekräftigt" worden waren.

Beim Verfolg der Untersuchungen über das Stickstoffbindungsvermögen mußte natürlich, ebenso wie bei den früheren Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie wieder die Größe der möglichen Verschiedenheit zwischen verschiedenen Stämmen und auch die Variation innerhalb ein und desselben Stammes genügend berücksichtigt werden. Außerdem stellten sich eine Menge interessanter Fragen heraus, von denen ich mich bemüht habe, im nachfolgenden einige zu lösen.

Auf eine ausführliche geschichtliche Darstellung der Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Mikroorganismen möchte ich verzichten, solche finden sich in fast jeder einschlägigen Arbeit in mehr oder minder großer Ausführlichkeit, ferner besitzen wir eine ganze Reihe erschöpfender zusammenfassender Darstellungen, auf die ich verweisen kann [1]).

---

[1]) Siehe hierzu:

1. Mac Dougal, D. T., Titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants (Minnesota Botanical Studies Bulletin No. 9. Part. IV vom 27. Sept. 1894), wo wir ein ausführliches, ca. 630 Arbeiten umfassendes Literaturverzeichnis von den ältesten Arbeiten an bis zum Jahre 1894 finden.

2. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. I. p. 383 (bis 1897).

3. Jacobitz, Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs. — Zusammen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Es gewinnt durch die neueren Untersuchungen fast den Anschein, als ob die Fähigkeit der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch frei lebende Bakterien überhaupt keine seltene Erscheinung sei und außer bei den „typischen Stickstoffsammlern“, dem Azotobacter und dem Bac. amylobacter, öfter vorkommt, als man anzunehmen geneigt war (vergl. Berthelot 1893, Winogradsky 1895, Volpino 1905, Perotti 1905, de Kruyff 1906, Kaserer 1907, Löhnis 1905, 1908, Löhnis und Pillai 1907, Löhnis und Westermann 1909, Bredemann 1908). Beijerinck und van Delden (1902) schreiben allen Arten ihrer Gattung „Granulobacter“, aëroben wie anaëroben, ein Stickstoffbindungsvermögen zu; ihre Vermutungen stützen sich aber nur auf in „Granulobacter“-Rohkulturen beobachtete Befunde[1]).

Daß Beijerincks „Granulobacter butylicum“ mit unserem Bac. amylobacter identisch und als solcher zu einer Stickstoffbindung befähigt ist, habe ich bewiesen, was den Beijerinckschen Granulobacter polymyxa anbelangt, bei dem Beijerinck und van Delden allerdings in Reinkultur keine N-Assimilation feststellen konnten, was sie aber auf einen ungenügenden Akkommodationszustand zurückführen, so habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß dieser Organismus wahrscheinlich nichts anderes ist, als Bac. asterosporus, welcher, wie ich kürzlich (1908) mitteilte, ebenfalls ein Stickstoffsammler ist.

Auch der von Haselhoff und mir (1906) aus zersetzten Konserven isolierte Bacillus, mit dem wir eine Stickstoffbindung feststellten, erwies sich als identisch mit dem Bac. asterosporus.

Die lange bezweifelte Stickstoffassimilation durch Pilze scheint nunmehr auch im bejahenden Sinne entschieden zu sein[2]), dagegen lassen

---

fassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur (bis 1900). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1900. p. 783, 833, 876.

4. Keutner, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. (Wissenschaftl. Meeresuntersuch. Neue Folge. Bd. VIII. [bis 1904]).

5. Koch, Alfred, Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III (bis 1904).

6. Vogel, Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs durch Mikroorganismen. Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur (bis 1900). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 33, 174, 215.)

7. Rodella, I batterii radicali delle leguminose. Studio critico-sperimentale d'alcuni problemi di batteriologia agraria e di fisiopatologia umana. Padova (R. Stab. P. Prosperini) 1907; wo auch allgemeine Literatur über N-Sammlung.

8. Vageler, P., Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs in Natur und Technik. Braunschweig (Fr. Vieweg u. Sohn) 1908.

[1]) Nachträgliche Bemerkung: In seinen gegen mich gerichteten Angriffen beansprucht Pringsheim die Priorität „für die Hypothese der allgemeinen Fähigkeit zur Stickstoffbindung bei Buttersäurebakterien des Typus mobilis non liquefaciens“. Er übersieht anscheinend, daß diese Hypothese, oder sagen wir besser Vermutung, vor ihm schon von Beijerinck und van Delden ausgesprochen war. In meiner Arbeit handelte es sich, wie man sieht, nicht um das Aussprechen einer Vermutung, sondern um den Beweis, daß alle in meinem Besitze befindlichen Stämme der Species Bac. amylobacter A. M. et Bredem. (zu welcher der bewegliche Buttersäurebacillus Grassbergers und Schattenfrohs vermutlich auch wohl gehört) zur Stickstoffsammlung befähigt sind.

Wenn Orla Jensen (dieses Centralbl. Bd. XXII. 1909. p. 342) aus meiner „Vorläufigen Mitteilung“ referiert „ . . . und laut einer vorläufigen Mitteilung von Bredemann können alle echten Buttersäurebakterien zur Stickstoffbindung befähigt werden“, so muß ich dazu doch bemerken, daß ich das in dieser Mitteilung nicht behauptet habe, sondern nur von der einen Species Bac. amylobacter spreche.

[2]) Siehe hierzu:

1. Heinze, Sind Pilze imstande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? [Sammelreferat.] (Annales Mycolog. Vol.. IV. 1906. p. 41.)

es die Untersuchungen von Krüger und Schneidewind (1900) als höchst unwahrscheinlich erscheinen, daß auch niedere chlorophyllgrüne Algen, wie vielfach angenommen wurde (Literatur siehe bei Krüger und Schneidewind), zu einer N-Assimilation befähigt sind, wenigstens konnten genannte Verfasser mit Reinkulturen von Stichococcus, Chlorella und Chlorothecium keine Zunahme an Stickstoff feststellen.

Es kann wohl kaum einem Zweifel unterliegen, daß die Reihe derjenigen Mikroorganismen, denen die Fähigkeit, den atmosphärischen Stickstoff zu binden, zukommt, mit den bislang bekannten noch keineswegs erschöpft ist.

Alfred Koch macht in Lafars Handbuch der technischen Mykologie darauf aufmerksam, daß der Grund, weshalb noch nicht für eine größere Anzahl von Organismen die Fähigkeit zur Bindung des Stickstoffs nachgewiesen werden konnte, in der analytischen Schwierigkeit liegen kann, sehr kleine Mengen gebundenen Stickstoffs festzustellen, die N-Bindung wird analytisch um so leichter und an einer um so geringeren Zellenzahl nachweisbar sein, je stickstoffreicher die Zelle des betreffenden Organismus ist. „Möglich ist es jedenfalls, daß unter den in ihrer Körpersubstanz prozentisch stickstoffärmeren Organismen — als Azotobacter — auch solche sind, welche freien Stickstoff als Nährstoff verwenden können, nur wird man dies mit unseren jetzigen Methoden nur dann sicher nachweisen können, wenn man erheblich größere Mengen von Material analysiert, als dies jetzt üblich ist; dies gilt natürlich nicht nur von Bakterien, sondern auch von anderen Organismen.“ In trockenen Azotobacter-Kolonieen fanden Gerlach und Vogel (1902) 10 bis 12 Proz. N. Aehnliche Mengen 1), 9,8—10,5 Proz., fand auch Stoklasa (1906). Letzterer unterzog die feste Bakterienmasse von Azotobacter auch einer näheren chemischen Untersuchung und fand, daß der Stickstoff der Bakterienmasse hauptsächlich in Form von Nukleoproteiden 2) und Lecithinen vorhanden war 3). Auch für Bac. amylobacter liegt eine Analyse des Stickstoffgehaltes der Zellen vor. Beijerinck (1893) analysierte sein „Butylferment“. Er erhielt aus einem Liter Würze von 11 Saccharometergraden ca. 6 g bei 110° getrocknete Bakteriensubstanz. Der Stickstoffgehalt dieser trockenen Masse schwankte je nach dem Zustande der Gärung. So fand er in einem Muster, welches aus einer nahezu glukosefreien Gärung, als diese ihren Höhepunkt erreichte, präzipitiert war, 4,01 Proz. N. Bei einer mit 2 Proz. Glukose angestellten Butylgärung fand er 4,4 Proz. N. Er erinnert daran, daß man in den aktiven Preßhefevarietäten des Handels 7—9 Proz. Stickstoff findet.

---

2. Ternetz, Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch einen torfbewohnenden Pilz. (Berichte der deutsch. bot. Ges. Bd. XXII. 1904. p. 267.)

3. Ternetz, Ueber die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XLIV. 1907. p. 350—409.)

4. Froehlich, Stickstoffbindung durch einige auf abgestorbenen Pflanzen häufige Hyphomyceten. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XLV. 1907. p. 256—303.)

5. Hannig, Die Bindung freien atmosphärischen Stickstoffs durch pilzhaltiges Lolium temulentum. (Ber. der deutsch. bot. Ges. Bd. XXVIa. 1908. p. 238.)

1) Nachschrift: Krzemieniewski (1908. p. 1031) fand in der Trockensubstanz des Azotobacter 8,9 Proz. Gesamtstickstoff, und zwar 8,6 Proz. Eiweißstickstoff.

2) Womit vielleicht die kräftige Volutinreaktion (Hugo Fischer, 1905) in Einklang zu bringen ist, die Azotobacter-Zellen zeigen.

3) Vergl. auch die neuesten Untersuchungen Stoklasas (1908) über die chemische Zusammensetzung der Azotobacter-Zellen.

Demnach wären die Zellen des Bac. amylobacter im Verhältnis zu denen des Azotobacter ziemlich stickstoffarm, im übrigen wird der Stickstoffgehalt wohl je nach dem Alter der Kultur, den Ernährungsbedingungen usw. schwanken.

Daß der gebundene Stickstoff vom Bac. amylobacter normalerweise im Körper selbst niedergelegt wird und nicht aus den Zellen in die Flüssigkeit diffundiert, ist aus den diesbezüglichen Versuchen Winogradskys und auch aus den Ergebnissen der untenstehenden Tabelle I zu schließen; in allen Fällen wurden im abfiltrierten Bodensatze reichlichere Mengen von Stickstoff gefunden, als in der Nährlösung[1]).

Ein zweiter und mindestens ebenso schwerwiegender Grund für die Schwierigkeit, die Fähigkeit der Stickstoffbindung festzustellen, ist die bei allen stickstoffbindenden Mikroorganismen (bei Pilzen liegen diesbezügliche Angaben nicht vor) gemachte Beobachtung ihrer

Degeneration bezüglich des Stickstoffbindungsvermögens.

Das Stickstoffbindungsvermögen ist nach den bisherigen Erfahrungen, die mit Azotobacter (Gerlach und Vogel, 1902, p. 890; 1903 p. 640) und Bac. amylobacter und auch mit den Knöllchenbakterien gemacht sind[2]) und die wir ebenfalls für Bac. amylobacter vollauf bestätigen können und auch bei Bac. asterosporus beobachteten, eine zweifelsohne sehr labile Eigenschaft, die der betreffende Organismus sehr leicht verliert, wenn er längere Zeit sich in künstlicher Kultur befindet. Uebrigens weiß ich nicht, ob es richtig ist, stets von einem „Verlust des Stickstoffbindungsvermögens“ zu sprechen, wenn der betreffende Organismus in sogenannter stickstofffreier Lösung nicht mehr oder doch höchstens noch kümmerlich gedeiht und auch keine oder nur geringe Mengen Stickstoff bindet, denn aus diesem Umstande wird meist nur auf die Wirksamkeit[3]) geschlossen. Es ist dabei noch gar nicht gesagt, daß er, wenn er in einem Nährmedium zur Entwickelung kommt, welches geringe Mengen Stickstoff oder andere die Entwickelung begünstigende Zusätze enthält, in diesem Nährmedium nicht seine Wirksamkeit wieder entfaltet, denn meine später mitzuteilenden Versuche haben gezeigt, einmal, daß in stickstoffhaltiger Lösung die Stickstoffbindung des Bac. amylobacter unter Umständen größer sein kann, als in sogenannten stickstofffreien Nährlösungen, und ferner, daß ein Zusatz von Erde zur stickstofffreien Nährlösung unwirksam gewordene Stämme wieder zur Stickstoffbindung in derselben anregen kann.

Wegen dieses leichten Verlustes der Wirksamkeit ist es deshalb sehr wohl möglich, daß, worauf übrigens auch Alfred Koch (1904) aufmerksam macht, die sich widersprechenden Angaben, die wir über das Vermögen bezw. Nichtvermögen der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch ein und denselben Organismus finden, vielfach darauf zurückzuführen sind, daß die einen Autoren einen wirksamen, die anderen, die ein negatives Resultat erhielten, einen abgeschwächten unwirksamen Stamm in Händen hatten [1]).

---

[1]) Siehe auch die Fußnote p. 504.

[2]) Auch der Volpinosche Organismus verlor seine Stickstoffassimilationsfähigkeit leicht. „Wird derselbe in einem Raum gehalten, welcher nicht die geringste Spur von Ammoniak aufweist, so genügt dies, um dessen Eigenschaften, Stickstoff zu sammeln, rasch sinken zu machen“ (1905).

[3]) Auch Vogel (1905) benutzt den Ausdruck „Wirksamkeit“ und stimmt mit Behrens, Hiltner und Löhnis darin überein, daß mit Bezug auf Bodenbakterien der der medizinischen Bakteriologie entlehnte Ausdruck „Virulenz“ besser durch „Wirksamkeit“ zu ersetzen ist.

Darauf wird es wohl auch beruhen, daß Beijerinck seine erste Angabe (1901), daß Azotobacter in Reinkultur Stickstoff zu assimilieren imstande sei, nachher widerrief (1902) und ihm diese Wirksamkeit nur in Symbiose mit anderen Bakterien zuschrieb.

Auch Heinze (1906) machte „besonders bei älteren Reinkulturen von Azotobacter auf festem Nährboden und vor allem dann, wenn dieselben schon häufiger weitergeimpft wurden, regelmäßig die Beobachtung, daß derartig ältere Organismen, in sogenannte stickstofffreie Nährlösung gebracht, sich im allgemeinen nur recht kümmerlich entwickeln und daß sich bei ihnen eine nennenswerte Stickstoffverarbeitung nicht feststellen läßt. Zweifellos sind solche Organismen physiologisch so verändert, daß ihre spezifische stickstoffsammelnde Tätigkeit sehr abgenommen hat und sich analytisch kaum noch mit Sicherheit nachweisen läßt [2])“.

---

[1]) Vergl. hierzu die widersprechenden Angaben über das Stickstoffsammlungsvermögen der Pilze, speziell von Penicillium glaucum und Aspergillus niger.

Pilzform	Autor	Publikationsjahr	Zahl der Versuche	Nährlösung	Gesamtzunahme an N (durchschnittl.) mg	Auf 1 g verbrauchte Dextrose durchschn. Zunahme mg
Aspergillus niger	Berthelot	1893	5	N-haltig	7,34	?
	Puriewitsch	1895	16	N-haltig (Amm.-Nitrat)	4,51	?
	Winogradsky	1895	?	?	θ	θ
	Saida	1901	1	N-frei	1,48	?
	Saida	1901	2	+ Amm.-Nit. od. Pepton	1,33	?
	Czapek	1902	einige 100	Zusatz verschiedenster N-Verbindungen	θ	θ
	Koch	1902	?	?	θ	θ
	Remy	1902	?	pro 20 g Dextrose oder Saccharose höchstens	10,00	?
	Ternetz	1907	2	N-arm	3,10	2,08
		1907	2	N-frei	1,16	1,20
	Froehlich	1908	1	N-arm	1,42	?
Penicillium glaucum	Puriewitsch	1895	5	+ Ammoniumnitrat	3,26	?
	Boussingault				θ	θ
	Ternetz	1907	2	N-frei	1,50	2,20
	Froehlich	1908	1	N-arm	2,22	?

(Tabelle nach Froehlich mit entsprechenden Aenderungen und Ergänzungen.)

[2]) Nachschrift: Krzemieniewski (1908) konnte bei seinen neuesten umfangreichen „Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beij.“ keinen Beweis dafür finden, daß dieser Organismus an seiner Wirksamkeit infolge einer 1 Jahr andauernden Züchtung eine Einbuße erlitt. Er isolierte mehrmals zu verschiedenen Zeiten den Azotobacter desselben Erdbodens und stellte mit diesen Kulturen, die gesondert weitergezüchtet wurden, Stickstoffbindungsversuche an. Es ergab sich, daß ein Unterschied im Stickstoffgewinn bei den verschiedenen alten Kulturen nicht bemerkbar war:

14-tägiger Azotobacter	144-tägiger Azotobacter	220-tägiger Azotobacter	350-tägiger Azotobacter
22,41 mg	25,62 mg	23,74 mg	20,20 mg
23,60 „	22,73 „	23,74 „	21,12 „
		23,85 „	

Er glaubt auch, daß die negativen Resultate von Beijerinck und van Delden und von Heinze (s. oben) nicht auf eine Abnahme der Wirksamkeit oder auf das Alter der Kulturen zurückzuführen seien, sondern auf die Aenderungen in der Zusammensetzung der Nährlösungen. Beide Forscher erhielten in reinen Azotobacter-Kulturen nur sehr geringe Stickstoffgewinne, in Kulturen (Roh- und Reinkulturen) mit Zusatz

Auch Löhnis und Pillai (1908) konstatierten, daß 3—4 Jahre alte Sammlungskulturen von Azotobacter chroococcum und von Rotkleebakterien, die seither auf Mannitagar fortgezüchtet waren, im Laufe der Jahre eine Einbuße an ihrer Wirksamkeit erlitten hatten, dagegen konnten sie, und das ist interessant, ein solches Zurückgehen der Wirksamkeit bei verschiedenen Formen „aus der Gruppe des Bact. pneumoniae" nicht feststellen.

Als außerordentlich empfindlich nicht nur hinsichtlich des Stickstoffbindungsvermögens, sondern auch hinsichtlich der Sporenbildung erwies sich nach Winogradskys Untersuchungen (1902) auch sein „Clostridium Pasteurianum". Die Kulturen waren unter denselben Bedingungen und mit denselben Aussaaten bald kräftig, bald schwach und oft wuchs überhaupt nichts an. Wenn die Kulturen in stickstoffreier Nährlösung anaërob im Stickstoffstrome gehalten wurden, trat nach der Impfung die Gärung allerdings regelmäßiger ein, aber mehrere der Kulturen blieben doch schwächlich und die Gärung in ihnen kam nicht zu Ende. Diese Unregelmäßigkeiten erschienen besonders periodenweise: nach einigen guten Kulturen hatte man ohne sichtlichen Grund eine schlechte und mit dieser hörte der normale Gang der Gärungen auf, alle neuen, die von dieser letzten Kultur abstammten, gingen schlechter und schlechter. Mit dieser Degeneration des Stickstoffbindungsvermögens beobachtete Winogradsky eine Degeneration der morphologischen Erscheinungen einhergehen. Ueber die näheren Erscheinungen dieser morphologischen Veränderung ist bereits im morphologischen Teile gesprochen: der Bacillus verlor allmählich sein Sporenbildungsvermögen, wobei gleichzeitig Involutionsformen, Mikrooidien, monströse Schwellformen usw. auftraten. Diese Erscheinungen traten nicht nur in stickstofffreien Nährmedien auf, sondern auch in solchen, die sonst einen ganz günstigen Nährboden abgaben.

Dieselben Schwierigkeiten, die Wirksamkeit unverändert beizubehalten, hatten auch Haselhoff und Bredemann (1906) bei ihren Versuchen, die stickstoffsammelnden Bakterien in Reinkultur zu erhalten. Schon einmaliges Uebertragen der gärenden Rohkulturen auf Agarplatten zum Zwecke der Reinisolierung genügte oft, um die Wirksamkeit entweder ganz verloren gehen zu lassen, oder sie so abzuschwächen, daß eine zweite Uebertragung von gärender stickstofffreier Nährlösung in neue stickstoffreie Nährlösung resultatlos verlief. Wie bei Winogradsky, war damit auch eine allmählich eintretende morphologische Degeneration zu beobachten.

Als ich meine Untersuchungen über die Stickstoffbindung durch die selbst isolierten und die unter verschiedenen Namen beschriebenen Stämme des Bac. amylobacter begann, waren die meisten der neu isolierten Stämme bereits ca. $^3/_4$ Jahre in künstlicher und zwar intensiver Kultur auf Dextrose-Pepton-Agar, die alten Stämme zum Teil schon seit vielen Jahren.

Sämtliche Stämme waren dank des früher erwähnten geübten Kulturverfahrens kulturell sehr kräftig, sie bildeten alle vorzüglich Sporen und waren überhaupt in ihrem morphologischen Verhalten völlig normal. Der Versuch jedoch, diese kräftigen und gesunden Stämme in einer stick-

---

von sterilisierter Erde dagegen ziemlich erhebliche, und eben in dem Mangel an Humusstoffen, welche, wie die Untersuchungen Krzemieniewskis klar zeigen (s. auch p. 492) eine namhafte Steigerung der Stickstoffbindung durch den Azotobacter herbeiführen, sieht er die Ursache für die anscheinende Abnahme der Wirksamkeit.

stofffreien Nährlösung zum Wachsen zu bringen, hatte bei den meisten einen absolut negativen Erfolg. Nur einige riefen eine schwächere oder stärkere Gärung hervor, der Versuch, sie von dieser gärenden Lösung in eine neue stickstofffreie Nährlösung überzuimpfen, lieferte zweifelhafte Resultate, bisweilen trat ein Wachstum ein, bisweilen auch nicht, selbst bei Verwendung desselben Impfmateriales war der Erfolg nicht immer ein positiver. Bei den in der Literatur unter verschiedenem Namen beschriebenen Originalstämmen anderer Autoren, welche ich inzwischen erhalten hatte („Granulobacter butylicum“ Beij., „Granulobacter pectinovorum“ Beij. u. van Delden, „Bac. saccharobutyricus“ v. Klecki, „Bac. amylobacter I“ Gruber, „Clostridium americanum“ Pringsheim [1]), Buttersäurebacillus aus Schabziegerkäse, „Gasphlegmonebacillus“), und die meistens schon lange Jahre in Kultur gewesen waren, trat nie Gärung in stickstofffreier Lösung ein. Dieses Ausbleiben des Anwachsens solcher an sich anscheinend kräftigen Stämme in der stickstofffreien Lösung hätte überraschen können, sie waren sonst, wie gesagt, morphologisch wie physiologisch dem Winogradskyschen Originalstamm völlig gleich. Daß das „Clostridium Pasteurianum“ die Fähigkeit in stickstofffreier Lösung zu wachsen leicht verlieren kann, war bekannt, aber es ging dann mit diesem Verluste gleichzeitig eine Degeneration in morphologischer Beziehung Hand in Hand, und bei meinen Versuchen handelte es sich um morphologisch völlig normale Stämme. Eine Prüfung des von mir gleichfalls auf Dextrose-Peptonagar weitergezüchteten Originalstammes und der beiden von Haselhoff und mir isolierten Stämme Clostrid. α und β, welche früher in stickstofffreier Lösung vorzüglich gediehen, ergab nun aber, daß auch sie trotz ihres in morphologischer Beziehung normalen Verhaltens jegliches Vermögen in stickstofffreier Nährlösung Gärungserscheinungen hervorzurufen verloren hatten. Diese selbe Erscheinung beobachtete auch Pringsheim an seinem „Clostridium americanum“, welches trotz seines morphologisch kräftigen Verhaltens in stickstofffreier Nährlösung anfänglich nicht wachsen wollte.

Während ich mit diesen Versuchen beschäftigt war, ging ich daran, frische Stämme aus Erde zu isolieren und diese sofort nach erhaltener Reinkultur auf ihre Wirksamkeit hin zu untersuchen. Ich benutzte zum „Fangen“ jetzt ausschließlich das Winogradskysche elektive Anreicherungsverfahren. Nachdem in der stickstofffreien Nährlösung reichlich die für Bac. amylobacter typischen Sporen mit „Kapsel“ enthalten waren, wurden Dextrose-Peptonagarplatten gegossen und von diesen sowohl auf D-Agar als auch in stickstofffreie Nährlösung übergeimpft; ich konnte, genau wie bei Bac. asterosporus (1908) konstatieren, daß dann, wenn direkt von der Platte abgeimpft wurde, sich also der Bacillus erst ganz kurze Zeit in künstlicher Kultur befunden hatte, in stickstofffreier Nährlösung immer eine kräftige Gärung einsetzte. Die aus derselben Kolonie auf D-Agar abgeimpfte Kultur ermöglichte eine mikroskopische Kontrolle auf Reinheit, die natürlich auch in der in Gärung befindlichen bezw. ausgegorenen Flüssigkeit vorgenommen wurde.

---

[1] Nachschrift: Auch nicht beim Pringsheimschen Stamme, ich möchte das nur deshalb hier nochmals wiederholen, weil Pringsheim in seinen auf meine vorläufigen Mitteilungen hin gegen mich gerichteten Angriffen schreibt: „Weiter erweckt Herr B. einen falschen Eindruck, wenn er angibt, daß meine Kultur die Fähigkeit zur Stickstoffbindung schon wieder verloren hatte. Ich sandte ihm der Bequemlichkeit wegen eine Kultur auf steriler Kartoffel, die natürlich beim Abimpfen auf stickstofffreie Nährlösung keine Gärung ohne neue Angewöhnung geben konnte, da ja die Zucht auf Kartoffel gerade für den Verlust des Stickstoffbindevermögens verantwortlich war.“ Ich hatte in meiner vorläufigen Mitteilung geschrieben: „Die in unsere Hände gelangenden Originalspecies hatten diese Fähigkeit (der N-Bindung) nicht mehr“; selbstverständlich soll das nur heißen, sie haben nicht mehr die Fähigkeit gehabt, in stickstofffreier Nährlösung Gärungserscheinungen hervorzurufen und Stickstoff zu binden, und das gilt vollkommen auch für die mir von Pr. gesandte Kultur.

Im übrigen ist Pr. sehr im Irrtum, wenn er meint, daß es beim Abimpfen des Bac. amylobacter von festen Nährböden (Kartoffel, D-Agar etc.) in stickstofffreie Lösung immer erst einer vorausgehenden Angewöhnung an diese Lösung bedürfe, wie aus meinen Darstellungen zur Genüge hervorgehen dürfte. Vergl. ferner den N-Assimilationsversuch III und IV.

Ich lege ganz besonderen Wert darauf, hier nochmals ausdrücklichst zu betonen, daß die mikroskopische Kontrolle äußerst sorgfältig durchgeführt wurde, bei keinem einzigen der hier mitgeteilten Versuche ist mit einer unreinen Kultur gearbeitet worden.

Es war nun also gezeigt, daß die frisch isolierten Stämme in stickstofffreier Lösung kräftige Gärung hervorzurufen imstande waren, und es durfte aus diesem Verhalten auch geschlossen werden, daß dabei eine Stickstoffassimilation stattfand. Denn es hat sich gezeigt, daß in der Tat, was gar nicht ohne weiteres vorauszusehen war, in stickstofffreier Nährlösung stets dann, wenn Wachstum eintrat, auch Gärung und Stickstoffassimilation stattfand, keine dieser Erscheinungen ohne die andere. Wurden diese in stickstofffreier Nährlösung lebhaft gärenden Stämme nun auf D-Agar in der früher beschriebenen Weise weitergezüchtet, so büßten auch sie allmählich — langsamer oder schneller — die Fähigkeit, in stickstofffreier Lösung zu wachsen, ein, ohne sich dabei morphologisch zu verändern.

Es ist interessant, daß die Schnelligkeit des Verlustes der Wirksamkeit bei den verschiedenen Stämmen recht verschieden ist. Ich besitze einige Stämme, die noch, nachdem sie 2 Jahre in lebhafter Kultur gewesen waren — Stamm 56 Kamerun und 76 Illinois — in stickstofffreier Nährlösung unverändert kräftige Gärung hervorriefen, jetzt — 1908 — nachdem sie ungefähr 3 Jahre in Kultur sind, sind sie nach dieser Richtung hin unzuverlässig geworden; bei anderen Stämmen trat der Verlust oft schon nach mehrmaligem Ueberimpfen auf D-Agar ein.

Wenn ein Stamm ein beginnendes Unwirksamwerden zeigte, wurden bei Anwendung kleiner Impfmengen in stickstofffreier Nährlösung fast stets negative Resultate erhalten, es mußte dann mit großen, bisweilen erheblichen Mengen geimpft werden, und im letzteren Falle wage ich es nicht zu entscheiden, ob der positive Erfolg dann seinen Grund nur in der reichlichen Menge des Impfmateriales hatte, oder nicht auch mit darin zu suchen war, daß mit der reichlichen Menge Impfmaterial größere oder kleinere Mengen Stickstoffverbindungen vom Agar mit in die stickstofffreie Nährlösung hineingerieten, und daß dann durch diese das Wachstum des Bac. amylobacter begünstigt wurde.

Es ist gleichgültig, ob man zur Kultivierung Dextrose-Peptonagar oder Agar ohne Dextrose oder einen rein mineralischen Agar ohne Pepton, aber mit Dextrose zur Weiterkultivierung des Bac. amylobacter verwendet, ein Verlust der Wirksamkeit wird auch dadurch nicht ausgeschlossen. Winogradsky züchtete nur in stickstofffreien Nährlösungen und beobachtete bei Reinkulturen auch in diesen ein allmähliches Abnehmen und endlich gänzliches Aufhören der Stickstoffbindung. Rohkulturen verloren das Stickstoffbindevermögen nicht so schnell, in einer Versuchsreihe, bei der er unter andauerndem Durchleiten von Stickstoff im Laufe von $2^1/_2$ Monaten 20 Passagen mit diesen Rohkulturen ausführte, begann die Gärung in den neuen Kolben regelmäßig 24—48 Stunden nach der Aussaat und ging bis zur vollständigen Zersetzung des Zuckers weiter, auch konnte weder mit der Zeit, noch der Zahl der Passagen ein Schwächerwerden der Gasproduktion in der stickstofffreien Nährlösung bemerkt werden. Die Unregelmäßigkeiten der Gärung, die in reiner anaërober Kultur auftraten, erklärt er durch eine langsame, auch morphologisch bemerkbare Degeneration des Bacillus, welcher nicht imstande sein dürfte, das schwierige Leben in einem von gebundenem Stickstoff freien Medium in einer unbegrenzten Zahl von Generationen lange ungestraft durchzuführen. Umgekehrt nimmt Pringsheim (1906) an, daß seinem Bakterium die Fähigkeit, Winogradskysche Lösungen, die keinen gebundenen Stickstoff enthielten, zur Gärung und Assimilation zu bringen, durch das lange Leben auf einem stickstoffreichen Medium, wie die Kartoffel, die er zur Kultur benutze, es darstellt, verloren gegangen sei. Daß der Mangel an gebundenem Stickstoff nicht der Grund zum Verlust der Wirksamkeit sein kann, wie Winogradsky meint, haben wir gesehen, wenigstens nicht der alleinige, denn auch auf Nährböden, die reichlich Stickstoff in gebundener Form enthalten [Fleischextrakt, Pepton[1]], geht das Stickstoffassimilationsvermögen bald verloren. Auch Zusatz von nur ganz geringen Mengen gebundenen Stickstoffs änderte nichts, ich versuchte in Agar aufgenommene stickstofffreie Nährlösung mit Zusatz verschiedener Mengen Stickstoffverbindungen, wie Pepton, Asparagin, Ammoniumnitrat und Ammoniumsulfat. Auf allen Nährböden war bei Darreichung von sehr wenig gebundenem Stickstoff das Wachstum nur sehr gering, und die Wirksamkeit ging anscheinend noch schneller verloren als auf gewöhnlichem D-Agar. Diese Versuche sind in sehr großem Umfang angestellt, da sie alle ein negatives Resultat ergaben, so beschränke ich mich darauf, nur dieses Resultat hier kurz mitzuteilen, ohne die verschiedenen Versuche eingehend zu beschreiben. Die Versuche mußten natürlich unter anaëroben Bedingungen ausgeführt werden, um den Bakterien aber genügend Stickstoff zur Verfügung zu stellen, hielt ich die Kulturen bei einem Druck von 70 mm bei 28°, was einem Gehalte von 15 mg Sauerstoff und ca. 45 mg Stickstoff im Liter entspricht, also Gelegenheit, ihre assimilatorische Tätigkeit auszuüben, war ihnen reichlich geboten.

Daß es auch nicht die Kultur auf einem an Stickstoff reichen Medium ist, die das Unwirksamwerden bedingt, wie Pringsheim glaubte, ergibt sich nach obigem von selbst; sowohl auf stickstofffreien, als auch auf stickstoffarmen und stickstoffreichen Nährmedien tritt das Unwirksamwerden in gleicher Weise ein, bald langsamer, bald schneller.

Worauf ein solcher einseitiger Verlust irgendeiner charakteristischen Eigenschaft zurückzuführen ist, läßt sich nicht ohne weiteres erklären, doch ist anzunehmen, daß das eine von irgendwelchen, wahrscheinlich sehr verschiedenartigen Verhältnissen, kurz von der künstlichen Kultur abhängige Abschwächungserscheinung ist, analog anderer derartiger Erscheinungen, wie Verlust der Sporenbildung, Verlust der Farbstoffbildung, Verlust der Pathogenität etc. Ebenso wie diese Eigenschaften der Sporenbildung, Farbstoffbildung, Pathogenität etc. durch geeignete Behandlung wiedergewonnen werden können, ist es auch möglich, das verlorene Stickstoffassimilationsvermögen wiederherzustellen.

---

[1] Pepton Witte enthält nach den neuesten Untersuchungen von Baur und Barschall (1906):
Gesamt-N 14,3 Proz.
Davon N im Phosphorwolframniederschlage 12,6 Proz., Amino-N 0,5 Proz., Kreatin-N 0,0 Proz. (Kreatinin ca. 0,03 Proz.).
Fleischextrakt Liebig nach denselben Verff.:
Gesamt-N 9,2 Proz.
Davon N im Phosphorwolframniederschlage 7,4 Proz., Albumosen- + Albumin-N 1,5 Proz., Ammon-N 0,3 Proz. Kreatin-N 0,4 Proz., Amino-N 1,0 Proz. — Wasser 23,0 Proz., Asche 19,5 Proz., Glykogen 0,7 Proz., Bernsteinsäure 0,8 Proz., Essigsäure 0,3 Proz., Kreatinin 3,0 Proz., Kreatin 1,25 Proz.

Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens.

Nach oben Gesagtem lag nichts näher, als zu versuchen, das Stickstoffbindungsvermögen dadurch zu regenerieren, daß man die Bakterien wieder in natürliche Verhältnisse oder vielmehr, da sich diese unter den gegebenen Bedingungen nicht ermöglichen ließen, auf das Substrat, das sie in der Natur bewohnen, zurückversetzte, d. h. sie wieder in Erde hineinbrachte, in derselben, eventuell nach wiederholter Erdpassage, eine längere Zeit lang leben ließ und nun versuchte, ob sie ihre Wirksamkeit wiedererlangt hatten. Mit Azotobacter waren derartige Versuche schon früher angestellt worden.

Beijerinck und van Delden (1902) setzten der sonst stickstofffreien Nährlösung, in der sie die Stickstoffbindung durch Azotobacter chroococcum und die „Symbionten“ feststellen wollten, auf 200 bis 300 ccm Nährlösung 1 g sterile Erde zu, welche „überall als Stickstoffnahrung diente, wodurch die Entwickelung der Kulturen beschleunigt wird“.

Heinze konnte „durch spezielle sogenannte Bodenpassagekulturen (flüssige Kulturen, möglicherweise auch feste Kulturen) mit Zusatz geeigneter Stickstoffverbindungen älteres Kulturmaterial von Azotobacter ganz bequem so auffrischen, daß es beim Ueberimpfen in sogenannte stickstofffreie Nährlösungen in diesen wiederum zu üppiger Entwickelung und damit in solchen Kulturen auch wieder zu einer reichlichen Stickstoffsammlung kommt“ (1905, 1906).

Vor kurzem erschien auch eine Arbeit von Krzemieniewski (1907), welche sich mit dem die Stickstoffbindung begünstigenden Zusatz von Erde in Azotobacter-Kulturen beschäftigt. Seine Versuche ergeben, daß Reinkulturen von Azotobacter nur dann erhebliche Mengen von Stickstoff assimilieren können, wenn man der Nährlösung kleine Quantitäten von Erde zusetzt; gleichzeitig fand er auch, daß der wässerige Bodenauszug, den man im Autoklaven bei 120° bekommt, in keinem Falle die Wirksamkeit des Azotobacter erhöht, daß aber die natürlichen Humusstoffe, sei es in Form von löslichen oder gar in Form von unlöslichen Salzen denselben Einfluß wie Erdezusatz auf die Reinkultur von Azotobacter ausüben. In nachstehender Zusammenstellung finden sich einige seiner diesbezüglichen Versuche.

(Siehe Tabelle p. 488.)

„Diese Wirkung von humussauren Salzen“, schreibt Krzemieniewski, „ist mir bis jetzt noch nicht ganz klar.“

Die sogenannte Erdpassage wurde in folgender Weise ausgeführt: Fette Gartenerde aus dem botanischen Garten wurde zunächst getrocknet, dann durch Sieben von gröberen Verunreinigungen, wie Steinen, Wurzeln etc., befreit und in ca. 5 cm hoher Schicht in Reagenzröhrchen eingefüllt. Dann wurde mit Wasser gleichmäßig durchfeuchtet und die Gläs-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kolben mit 200 ccm Nährlösung, welche 4 g Glukose enthält. Versuchsdauer 10 Tage.

Menge des humussauren Kaliums ccm	Stickstoffgewinn mg
0	1,4
0	1,9
1	4,0
1	3,9
5	10,9
5	10,1
10	12,3
10	13,4

chen im Autoklaven bei 150° $^3/_4$ Stunden lang sterilisiert. Ehe die Röhrchen geimpft wurden, wurden sie stets auf absolute Sterilität geprüft, indem aus jedem Röhrchen von der zu impfenden Erde Proben sowohl in stickstofffreie Nährlösung, als auch in Bouillon übertragen wurden. Zu den ersten Versuchen mit Erdpassage versuchte ich die Erde durch an mehreren aufeinander folgenden Tagen wiederholtes Sterilisieren im Dampftopf steril zu machen, aber ohne Erfolg; angelegte Kontrollproben ergaben, daß allerdings in stickstofffreier Nährlösung nie, wohl aber sehr oft in Bouillon eine Bakterienentwickelung stattfand, was mich dann veranlaßte, die Sterilisation im Autoklaven auszuführen, nachdem ich mich davon überzeugt hatte, daß dies keinen Einfluß auf das Resultat ausübte[1]).

Diese sterile Erde wurde dann mit den Reinkulturen der in stickstofffreier Nährlösung gar keine oder nur noch ganz schwache Gärung hervorrufenden verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter von D-Agar geimpft, und zwar verfuhr ich immer in der Weise, daß ich von einer jüngeren, morphologisch kräftigen, aus allen Morphoden — lebhaft beweglichen Oidien und Sporangien und freien Sporen — bestehenden Kultur, die auf D-Agar im Vakuum bei ca. 1 mg Sauerstoff und 28° entstanden war, eine nicht zu geringe Menge in sterilem Wasser verteilte und diese Aufschwemmung auf die sterile Erde aufgoß, letztere wurde dann noch mit sterilem Wasser kräftig gleichmäßig durchfeuchtet. Diese geimpften Erdröhrchen wurden dann meist mehrere Wochen bis Monate sich selbst überlassen. Im allgemeinen wurden immer 2 Parallelpassagen angesetzt, ein Röhrchen wurde bei gewöhnlichem Luftzutritt und Zimmertemperatur aufbewahrt und ein anderes anfänglich 4 Wochen lang im Vakuum bei 1 mg Sauerstoff und 28° und dann weiter bis zur Verwendung bei gewöhnlichem Luftzutritt und Zimmertemperatur. Bei Verwendung war die Erde dann meist völlig staubtrocken geworden. Anfangs

---

1) Siehe auch Warmbold, p. 23 (1906). Seine Versuche zeigten, daß der Boden entweder 7 Stunden auf 145° erhitzt, oder 2 Stunden im Dampf von 2 Atmosphären Ueberdruck gehalten werden mußte, wenn eine sichere Abtötung aller Keime erfolgen sollte. W. prüfte auf Sterilität, indem er kleine Bodenmengen in verschiedene Nährlösungen impfte und nach 8-tägigem Aufbewahren bei 30° mikroskopisch prüfte. Nach meinen Erfahrungen empfiehlt sich eine längere Beobachtung der Kontrollkulturen sehr — ohne damit selbstverständlich die Resultate Warmbolds anzweifeln zu wollen — denn bei der im Dampftopf sterilisierten Erde konnte wiederholt bemerkt werden, wie die Bouillon anfangs bei 30° steril blieb, bis sich dann nach bisweilen 3—4 Wochen erst eine schwache Vegetation zeigte. In allen Fällen — es wurde allerdings stets dieselbe Erde benutzt — bestand diese aus einem sporenbildenden, wahrscheinlich thermophilen Bacillus, der sich auch auf D-Agar sehr langsam entwickelte.

wurde immer noch eine dritte Reihe angesetzt, indem die sterile Erde gleichzeitig mit dem Bac. amylobacter mit einigen nicht sporenbildenden Bakterienarten — B. fluorescens und B. hirtum — geimpft und dann bei völligem Luftzutritt aufbewahrt wurde, doch erwies sich diese Anordnung bald als zwecklos und wurde daher fallen gelassen.

Nachdem so also die geimpften Erdekulturen einige Wochen oder Monate gestanden hatten, wurden ca. 2 g Erde aus ihnen in stickstofffreie Nährlösung übertragen (ca. 7 cm hohe Schicht in Reagensgläsern) und gleichzeitig durch Anlegen aërober und anaërober D-Agarkulturen die Reinheit noch einmal kontrolliert. Es ergab sich das erfreuliche Resultat, daß in allen Fällen, auch bei den ältesten schon seit Jahren in künstlicher Kultur befindlichen Originalstämmen, meist schon nach 12 Stunden eine lebhafte Gärung einsetzte, die nach ca. 36 Stunden ihren Höhepunkt erreichte, erkennbar durch einen oft mehrere Zentimeter hohen Schaum. Bereits nach kurzer Zeit war der Zucker meist verschwunden, es fanden sich dann im Kreideniederschlage massenhaft Sporen neben meist noch reichlichen mit Glykogen gefüllten Sporangien und wenigen Stäben vor. Eine Impfung der lebhaft gärenden Kultur in neue stickstoffreie Nährlösung ergab, sofern die Impfmenge nicht zu klein bemessen war[1]), immer positive Resultate und führte stets zu einer lebhaften Gärung. Mit auf diese Weise aufgefrischten Kulturen sind die Stickstoffgewinne erhalten, die in den später folgenden Tabellen II und V mitgeteilt werden.

Es ist bemerkenswert, daß sich diese so „aufgefrischten“ Stämme genau so verhalten, wie frisch aus Erde isolierte. In stickstofffreier Nährlösung lassen sie sich sehr oft umimpfen, ohne daß eine Schwächung der Wirksamkeit bemerkbar wird, genaue Versuche, wie oft ein Uebertragen in neue Nährlösung ohne Verlust der Wirksamkeit stattfinden kann, sind, weil zwecklos, nicht angestellt worden, doch konnte die Beobachtung gemacht werden, daß sich auch die aufgefrischten Stämme, ebenso wie die frisch aus der Erde isolierten, verschieden verhielten, einige gärten durch viele Ueberimpfungen hindurch unverändert fort, einige ergaben schon nach kurzer Zeit unsichere Resultate. Noch deutlicher trat dies, und zwar wieder an denselben Stämmen in gleicher Weise ausgeprägt, beim Uebertragen auf D-Agar hervor, einige, unter diesen zeichnete sich besonders der Stamm J (Gran. pectinovor. Beij.) aus, behielten auch auf D-Agar ihre Wirksamkeit längere Zeit lang bei, andere verloren sie schnell, aber auch in dieser Beziehung war zwischen den aufgefrischten und frisch isolierten Stämmen kein Unterschied zu bemerken.

Der Erfolg dieser Erdpassage auf die „Wirksamkeit“ unseres Bac. amylobacter war also ein ganz ähnlicher, wie der Erfolg der Tierpassage z. B. auf die Pathogenität vieler Bakterien; für beide kennen wir die wirksamen Faktoren noch nicht, die Wirkung könnte auf dem Einfluß eines oder verschiedener Stoffe oder Kräfte auf die Bakterien beruhen.

Daß es nicht die Gesamtheit der Verhältnisse ist, die unser Bacillus auf dem Substrat findet, das er in der Natur bewohnt, geht aus Versuchen hervor, welche zeigen, daß ein ähnlicher, wenngleich nicht immer so prompt eintretender Erfolg, wie durch die Erdpassage schon durch einfachen Zusatz von steriler Erde zur stickstofffreien Nährlösung erzielt

---

1) Siehe unten.

werden konnte: ca. 1—2 g obiger steriler Erde wurde in 6—8 cm hoch mit stickstofffreier Nährlösung beschickte Reagensröhrchen überführt und die Lösung dann mit 1—2 großen Oesen einer jungen Kultur von D-Agar, die, wie zuerst, alle Morphoden enthielt, geimpft. Der Erfolg war ein ähnlicher, nur setzte die Gärung langsamer ein, meist erst nach 3 bis 4 Tagen. War die Gärung einmal im Gang, so verlief sie ebenfalls sehr stürmisch und kam meist mit völliger Vergärung des Zuckers zum Abschluß. Auch durch diese Kulturen gelang es immer, frische stickstofffreie Nährlösungen in Gärung zu versetzen.

Welcher oder welche von den zahlreichen Stoffen, die in der Erde enthalten sind, es sind, welche diese günstige Wirkung der Erde hervorrufen, wie sie für Azotobacter bekannt war und von uns auch für den Bac. asterosporus (1908) und den Bac. amylobacter festgestellt wurde, darüber scheinen die Ansichten geteilt zu sein.

Beijerinck und van Delden (1902) setzten Erde einfach als „Stickstoffnahrung" zu, Heinze (1906) scheint die günstige Wirkung der Bodenpassagekulturen den durch dieselbe geschaffenen natürlichen Lebensbedingungen zuzuschreiben, Krzemieniewski (1907) läßt die Frage einstweilen ganz offen.

Da es, wie gesagt, nicht die Gesamtheit der Verhältnisse ist, die unser Bacillus auf dem von ihm in der Natur bewohnten Substrat findet, wäre es das Nächstliegende, die günstige Wirkung der Erde auf die in der Erde enthaltenen Stickstoffverbindungen zurückzuführen.

Daß es gelingt, den Bac. amylobacter durch Zusatz von geringen Mengen gebundenen Stickstoffs zu der sonst stickstofffreien Nährlösung wieder zum Wachstum zu bringen und ihn in dieser nun etwas Stickstoff enthaltenden Nährlösung wieder zur Stickstoffassimilation zu veranlassen, hatte bereits Winogradsky (1895) an seinem „Clostridium Pasteurianum" gezeigt. Die Rohkulturen, die er durch Einimpfen von frischer Erde in stickstofffreie Lösung erhielt, gingen bei wiederholtem Uebertragen in stickstofffreie Nährlösung nicht immer an, und diese Unregelmäßigkeiten verstärkten sich noch mit wiederholtem Umimpfen. Sehr geringe Mengen von gebundenem Stickstoff in Form von Ammoniak oder Salpeter — Pepton erwies sich nicht als wirksam — übte einen sehr günstigen Einfluß aus, In zwei Fällen z. B. blieb die Kultur nach der Aussaat 42 bezw. 22 Tage steril, setzte er dann geringe Mengen Ammoniumsulfat zu, so begann nach 4 bezw. 5 Tagen lebhafte Gärung, welche nach ca. 3 Wochen beendet war, in beiden Fällen wurden ziemlich erhebliche Mengen Stickstoff gebunden — ca. 2,5 mg N auf 1 g Dextrose —.

In derselben Weise verfuhr auch Puriewitsch (1895) bei seinen Versuchen über die Stickstoffassimilation durch Schimmelpilze, da diese bei völliger Abwesenheit von gebundenem Stickstoff in der Nährlösung nicht wuchsen, setzte er geringe Mengen von Ammoniumnitrat zu und konnte dann ebenfalls Stickstoffbindung konstatieren. Saida (1901) fand, daß Endococcus purpurascens nur assimilierte, wenn der stickstofffreien Lösung etwas Pepton oder Ammoniumkarbonat zugesetzt wurde.

Auch Pringsheim¹) (1906) bediente sich neuerdings des Winogradskyschen Verfahrens, um den Bac. amylobacter (sein „Clo-

---

1) Hinsichtlich meiner Kontroverse mit Pringsheim verweise ich auf meine Entgegnung in Bd. XXIII. p. 41 dieses Centralblattes: „Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien".

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

stridium americanum“) zur Gärung zu bringen. Versetzte er die stickstofffreie Lösung mit einer Menge von schwefelsaurem Ammoniak, „die weniger Stickstoff enthielt, als zur Vergärung des vorhandenen Zuckers nötig war“, so trat nach Impfung aus einer frischen Kartoffelkultur bald Gärung ein, die sich noch fortsetzte, „als aller Erwartung nach die geringe Stickstoffmenge des schwefelsauren Ammoniaks schon verbraucht war“.

Während nun Winogradsky, Puriewitsch und Saida ihre Beobachtungen über die Stickstoffbindung auf die mit etwas gebundenem Stickstoff versetzten flüssigen Kulturen beschränkten, beobachtete Pringsheim, daß Abimpfungen aus diesen gärenden, mit etwas Ammoniumsulfat versetzten Lösungen in stickstofffreie Nährlösungen auch in diesen wieder Gärung hervorriefen, und es gelang ihm, durch Abimpfen aus einer solchen gärenden Kultur immer neue Winogradskysche Lösungen, die keinen gebundenen Stickstoff enthielten, zur Gärung, und, wie durch die Analyse bestätigt wurde, zur Assimilation des freien Stickstoffs zu bringen. Er erklärt diese Erscheinung, die für die Hervorrufung der Stickstoffbindung denselben Erfolg zeitigte, wie unsere Erdpassage, dadurch, daß er annimmt, dem Bacillus sei die Fähigkeit zur Stickstoffassimilation durch das lange Leben auf einem so stickstoffreichem Medium, wie die Kartoffel, welche er zur Kultivierung benutzte, verloren gegangen (daß dies nicht richtig ist, haben wir gesehen), und durch die „allmähliche Entziehung des gebundenen Stickstoffs“ sei die Fähigkeit der Stickstoffbindung wieder angewöhnt worden.

Meine Versuche zur Untersuchung der Frage nach der Ursache der durch die Erde hervorgerufenen Wirkung haben bis jetzt zu keinem positiven Ergebnis geführt. Sie werden jedoch fortgesetzt und sollen, wenn sie zu einem Abschluß gediehen sind, mitgeteilt werden. So viel geht aus meinen bisherigen Resultaten sicher hervor, daß ein wässeriger Erdauszug, den man durch wiederholtes Auskochen oder durch 4-stündiges Dämpfen der Erde im Autoklaven bei 150° erhält, in keinem Falle die Wirksamkeit der Erde ersetzen kann, dieses Ergebnis steht also im Einklang mit der von Krzemieniewski an Azotobacter gemachten Beobachtung (s. o.). Es wird ja der Erde durch Wasser nur ein sehr geringer Teil ihrer organischen Bestandteile, auch des organisch gebundenen Stickstoffs entzogen 1), aber auch die Verwendung eines stark eingeengten Erdauszuges, von dem ein Teil 5 Teilen Erde entsprach (sonstiger Erdzusatz zur stickstofffreien Lösung höchstens 5 Proz. Erde!) hatte dasselbe negative Ergebnis.

---

1) Vergl. z. B. Versuche von Berthelot und André (1893): Durch kaltes Wasser wurde nur $^1/_{1000}$ (1,7 mg von 1,74 g im Kilo) als Ammon-N und $^1/_{200}$ (8,3 mg) des Amido-N entzogen, bedeutend stärker war die Einwirkung von Säure und Alkali.

Eigene Versuche ergaben folgendes (Mittel aus je vier Bestimmungen nach Jodlbaur in je 25 g Erde bezw. in 25 g Erde entsprechendem Auszug, berechnet auf 100 g):

In 100 g der Erde war Ges.-N:
in Erde I = 269,4 mg,
„ „ II = 165,0 „

Durch wiederholtes Auskochen und Dekantieren mit Wasser konnte entzogen werden
aus Erde I = 3,8 mg = 1,4 Proz. vom Ges.-N-Gehalt der Erde,
„ „ II = 5,0 „ = 3,0 „ „ „ „ „

Durch $1^1/_2$-stündiges Dämpfen bei 150° und wiederholtes Dekantieren wurde entzogen
aus Erde II = 21,7 mg = 13,2 Proz. vom Ges.-N-Gehalt der Erde.

Durch Auskochen mit 4 Teilen 0,5-proz. Kalilauge und wiederholtes Dekantieren mit Wasser wurde entzogen
aus Erde I = 104,8 mg = 37,0 Proz. vom Ges.-N-Gehalt der Erde,
„ „ II = 43,2 „ = 25,9 „ „ „ „ „

Wenn wir somit wirklich annehmen wollten, daß die beobachtete günstige Wirkung der Erde lediglich die Folgen einer Stickstoffwirkung derselben seien, so könnten wir bis jetzt höchstens annehmen, daß diese die günstige Wirkung hervorrufenden Stickstoffverbindungen nicht durch Wasser entziehbar, also wahrscheinlich nicht anorganischer Natur sind[1].

---

[1] Nachschrift. Einige Tage vor Absendung des Manuskriptes erhielt ich die Arbeit von Krzemieniewski: Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beij., welche die von mir beabsichtigten Untersuchungen über die Wirkung der Erde zum Teil schon vorwegnehmen und sehr interessante Resultate zutage gefördert haben. Der Verf. hatte schon früher (1907) beobachtet (s. auch p. 487), daß der Azotobacter seine stickstoffbindende Tätigkeit viel energischer entwickelt, wenn der stickstofffreien Lösung ein wenig steriler Erde zugesetzt wurde; zu einigermaßen ansehnlichen Gewinnen kam es in Reinkultur überhaupt nur bei Gegenwart von kleinen Mengen Erde. Weitere Versuche zeigten, daß der wässerige Bodenauszug in keinem Falle die Wirkung der Erde hervorrief, daß aber die natürlichen Humusstoffe, sei es in Form von löslichen oder unlöslichen Salzen, genau denselben Einfluß wie Erdzusatz auf die Reinkulturen von Azotobacter ausübten. Die neuesten Untersuchungen des Verf. beschäftigen sich nun eingehender mit der Wirkungsweise der Humusstoffe auf den Azotobacter. Sie bestätigen seine früheren Befunde, daß ohne Humuszusatz die Stickstoffbindung sehr gering, mit Humuszusatz jedoch verhältnismäßig kräftig ist, und zwar um so energischer, je größer die zugegebene Menge von Humusstoffen war, jedoch nur bis zu einer bestimmten Maximalgabe. Nur aus Erde hergestellter Humus, gleichgültig, ob in Form von freier Säure oder von K-, Na- oder Ca-Salzen übte diese Wirkung aus, und es scheint, als ob sich aus verschiedener Erde hergestellter Humus auch noch verschieden verhält.

Die Untersuchung der Frage, die sich auch Krzemieniewski vorlegte, ob die Wirkung der Humusstoffe als eine Stickstoffwirkung aufzufassen sei, ergab — und das ist für unsere Frage besonders interessant — ein entschieden negatives Resultat. Zuerst zeigte es sich, daß der Ersatz des Humus durch andere für gewöhnlich eine gute Stickstoffnahrung für die Bakterien darstellenden Stickstoffverbindungen — versucht wurde Ammoniumsulfat, Kaliumnitrit, Kaliumnitrat, Glykokoll, Harnstoff, Asparagin, Glutamin, Alanin, Leucin, Tyrosin, Pepton — nicht denselben Effekt hatte, demnach bliebe nur eine von den beiden Alternativen übrig, daß entweder der Humus die einzigste Stickstoffverbindung ist, welche dem Azotobacter Stickstoff liefern kann, oder daß der günstige Einfluß des Humus nicht auf einer Wirkung des Stickstoffes, sondern auf irgend einer anderen Wirkung beruht. Da Verf. nun fand, daß der Humusstickstoff zur Ernährung des Azotobacters gar nicht verwendet wurde, so glaubt er schließen zu können, und das, wenn seine letzteren Untersuchungen zu Recht bestehen, wohl mit Recht, „daß die Humusstoffe nicht als Stickstoffquelle, sondern auf irgendeine andere, vorläufig uns unbekannte Weise den Azotobacter zu einer üppigen Entfaltung seiner Lebensfunktionen und zu einer energischen Stickstoffbindung anregen."

Nach diesen interessanten Ergebnissen der Versuche über die bekannte günstige Wirkung des Erdzusatzes auf die Wirksamkeit des Azotobacter möchte ich wohl zu der Annahme neigen, daß die von mir geübte Erdpassage vielleicht auf gleiche Ursachen zurückzuführen ist. Auch beim „Granulobacter" — unter diesem Namen faßt Krzemieniewski die Organismen zusammen, „die sich in der Nährlösung mit Glukose nach ihrer Infizierung mit pasteurisierter Erde entwickeln", dürften also zum Teil sicher wohl Bac. amylobacter sein — steigerte ein Zusatz von Humus die Wirksamkeit.

N-Gewinn in Milligramm
(100 ccm Nährlösung + 1,5 g Glukose)

	Nährlösung ohne Na-Humat	Nährlösung mit Na-Humat
Azotobacter	0,74 0,74	10,79 10,44
Granulobacter	1,93 1,51	4,70 4,60
Azotobacter + Granulobacter	1,58 1,51	13,24 12,19

Weitere Untersuchungen werden uns auch über diese interessante Frage Aufschluß geben; sie sind inzwischen von mir in Angriff genommen.

Quantitative Stickstoffbindungsversuche mit Reinkulturen des Bac. amylobacter.

Aus allen Ergebnissen unserer Untersuchungen der verschiedenen Stämme ließ sich schon vermuten, daß sie alle zu einer Stickstoffbindung befähigt seien, und es kam nun darauf an, diese Vermutung experimentell als richtig zu beweisen.

Im Vordergrunde stand ja, um das nochmals hervorzuheben, ständig die Frage, ob alle unsere Stämme zu einer und derselben Species gehörten, oder ob sie verschiedene Species repräsentierten. Es kam daher nicht bloß darauf an, ein Stickstoffbindungsvermögen überhaupt festzustellen, sondern auch zu untersuchen, wie sich die Eigenschaft der Stickstoffbindung unter verschiedenen Verhältnissen bei den verschiedenen Stämmen verhielt. Letztere Frage zu entscheiden war besonders aus dem Grunde wichtig, um zu sehen, ob die verschiedenen Angaben in der Literatur darauf zurückzuführen sind, daß die verschiedenen Autoren verschiedene Species oder verschiedene Methoden angewandt haben.

Winogradsky und auch Haselhoff und Bredemann hatten die flüssigen Kulturen, die auf eine Stickstoffanreicherung hin geprüft werden sollten, während der ganzen Kulturzeit hindurch im Stickstoffstrome gehalten, einmal, um den Sauerstoff auszuschalten und ferner, um den Bakterien auch in der Tiefe der Nährlösung genügenden Stickstoff zur Assimilation darzubieten.

Verf. machte damals bei den zusammen mit Haselhoff angestellten Versuchen über die Stickstoffassimilation die Beobachtung, daß die Gärung in stickstofffreier Nährlösung ebenso kräftig von statten ging, wenn die Kolben einfach an der Luft standen, selbst in Reagensröhrchen, die nur einige Zentimeter hoch mit stickstofffreier Lösung gefüllt waren, fand unter vollständig aëroben Verhältnissen kräftige Gärung statt. Versuche darüber, ob auch in solchen im offenen Kolben vergorenen Kulturen eine Stickstoffbindung stattfand, konnten damals leider nicht gemacht werden. Inzwischen erschien dann die Mitteilung von H. Pringsheim (1906), welcher die Stickstoffassimilationsversuche mit seinem Stamme stets im offenen Kolben ausführte und so auch sichere Stickstoffbindung konstatieren konnte 1). Durch die mögliche Verwendung von

---

1) Nachträgliche Bemerkung: In seinen auf meine „Vorläufige Mitteilung“ hin gegen mich gerichteten Angriffen verwendet H. Pringsheim auch eine von mir mit ihm geführte Privatkorrespondenz zu einer persönlichen Verdächtigung. Er schreibt:

„Zum Schluß möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß Herr Bredemann mir schon vor einiger Zeit brieflich mitteilte, daß auch seine Clostridien Winogradskysche Nährlösung im offenen Kolben vergären und dabei Stickstoff binden können. Hätte Herr Bredemann diese Beobachtung selbständig gemacht, so würde er sich in seiner Arbeit mit Haselhoff die Mühe gespart haben, seine Gärungen im Stickstoffstrom zu unternehmen. Durch ein energisches Schreiben habe ich mir damals ihm gegenüber die Priorität für diese an meinem Clostridium gemachte Beobachtung gewahrt.“

Ich möchte bemerken, daß in meiner „Vorläufigen Mitteilung„ nichts enthalten ist, auf was sich diese Bemerkung Pringsheims beziehen könnte, es bezieht sich dieser Angriff vielmehr auf eine Stelle in einem gelegentlichen Briefe, die niemandem bekannt sein kann, in der ich Pr. in bezug auf seine erste Mitteilung darauf aufmerksam machte, daß die von ihm angenommene verschiedene Empfindlichkeit gegen Sauerstoff, durch die sich, wir er glaubte, seine Form besonders von denjenigen Formen, mit welchen Haselhoff und ich arbeiteten, unterschiede, keinen Schluß auf eine Verschiedenheit seiner Form von unseren zuließe, weil ich auch bei unseren die von ihm beschriebene Erscheinung der Gärung im offenen Kolben beobachtet habe. In dieser Aufmerksammachung auf einen Irrtum dürfte wohl nur H. Pringsheim einen Prioritätsanspruch von mir erblicken.

offenen Kolben ist natürlich die ganze Versuchsanstellung sehr vereinfacht, weil ja das Kultivieren im Stickstoffstrom mit mancherlei Unbequemlichkeiten verbunden ist. Meine ersten Versuche gingen darauf hinaus, festzustellen vor allem, ob überhaupt eine Stickstoffbindung stattfindet und ferner, ob hinsichtlich der Energie derselben ein Unterschied vorhanden war, wenn die Kulturen im Stickstoffstrome oder im offenen Kolben gehalten wurden.

1. Methode der Kultivierung im Stickstoffstrome.

Als Kulturgefäße dienten große 1000 ccm fassende Jenenser Hartglaskolben mit langem Halse (Kjeldahl-Kolben), welche je genau 800 ccm der Nährlösung (s. u.) enthielten. Ueber den Watteverschluß des Kolbenhalses wurde ein doppelt durchbohrter Kork gesetzt, durch dessen Bohrungen 2 Glasröhren hindurchgingen: Eine einfach rechtwinkelig gebogene, das Gasableitungsrohr, eben durch den Kork hindurch, die andere, das Gaszuleitungsrohr durch den Watteverschluß hindurch bis fast auf den Boden des Kolbens. Diesem Gaszuleitungsrohr haben wir die Form der beistehenden Fig. 12 gegeben, das untere Ende ist schräg abgeschliffen, um ein Verstopfen desselben durch die am Boden befindliche Kreide nach Möglichkeit hintanzuhalten; oben ist eine kugelige Erweiterung von ca. 7 cm Durchmesser angeblasen zur Vermeidung eines durch Verminderung des Stickstoffdruckes oder besonders durch Temperaturschwankungen hervorgerufenen Zurücksteigens der Nährlösung und einer hierdurch bedingten etwaigen Infektion der mit dem Kolben verbundenen Nachbarkolben, weil wir mit diesem Umstande bei den ersten Versuchen, die deshalb verworfen werden mußten, üble Erfahrungen gemacht hatten. Das rechtwinkelig gebogene Ende dieses Zuleitungsrohres besitzt vorne noch eine zweite kleinere birnförmige Erweiterung, welche mit Watte dicht vollgestopft wurde, um eine genügende Filtration des durchzupressenden Gases zu ermöglichen. Das freie Ende des Gasableitungsrohres wurde natürlich ebenfalls mit Watte verschlossen, dann wurde, nachdem die Kolben fertig beschickt waren, das ganze System an 3 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopfe sterilisiert und mit einigen Kubikzentimetern einer gärenden Kultur in stickstofffreier Nährlösung geimpft. Zu diesem Zwecke wurde der ganze Verschluß: Kork samt Glasröhren und Watte, welche, um ein leichteres Herausziehen zu ermöglichen, in geeigneter Weise vor der Sterilisation an die Glasröhren festgebunden war, unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln genügend weit herausgezogen und nach vollzogener Impfung so tief wieder in den Hals hineingedrückt, bis der Kork ca. $^1/_2$ cm tief im Halse des Kolbens sich befand; dieser so entstandene Raum wurde zur besseren Dichtung mit geschmolzenem wasserfreien Wollfett ausgegossen.

Je 6 der so hergerichteten Kulturkolben wurden dann zum Zwecke des Hindurchleitens des Stickstoffs zu einem System zusammengestellt, indem alle Kolben durch Parallelschaltung — je 3 an einer Seite — miteinander verbunden wurden in der Art wie es beistehende Skizze (Fig. 13) für eine Seite dieses Systems erläutert. *E* ist mit

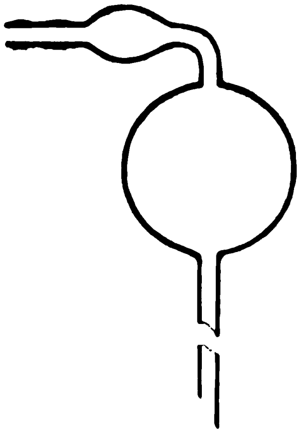


Fig. 12.

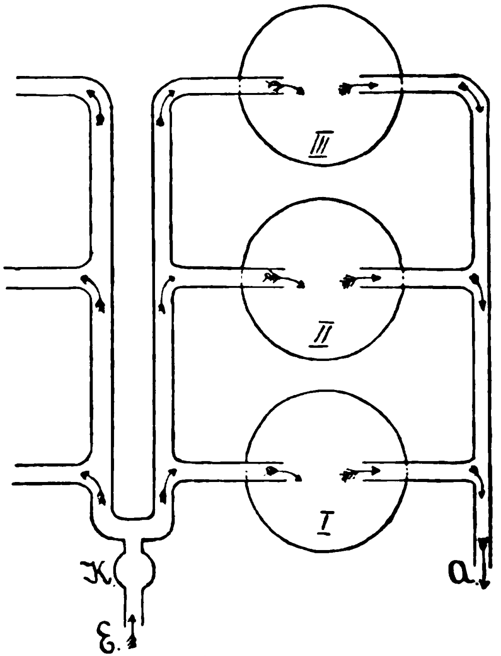


Fig. 13.

dem Stickstoffgasometer verbunden, *K* ist eine dem T-Rohr angeschmolzene kugelige Erweiterung, welche dazu dient, bisweilen aus dem Stickstoffgasometer mitgerissene Wassertropfen zurückzuhalten. Die übrige Anordnung ist aus der Skizze ohne weiteres ersichtlich. Bei *A* tritt das Gas wieder aus, es ist hier als Abschluß eine Quecksilber enthaltende Drechselsche Flasche vorgelegt. Die Stärke des Stickstoffstromes wird an jeder Flasche durch Quetschhähne geregelt, welche sowohl am Zu- wie am Ableitungsrohr angebracht sind, ebenso bei *E* und *A*. Das ganze System war so eingerichtet, daß Gummiverbindungen soviel wie möglich vermieden wurden, und da, wo sie unbedingt nötig waren, wurden sie möglichst kurz genommen.

Um ohne allzustarken Stickstoffverbrauch immer unter möglichst anaëroben Bedingungen arbeiten zu können, wurde kein ständiger Stickstoffstrom hindurchgeleitet, sondern ich verfuhr in der Weise, daß ich — in der ersten Zeit der Gärung täglich, später alle 3 bis 4 Tage — das ganze System möglichst weit evakuierte, und dann sofort wieder mit reinem Stickstoff füllte. Zu diesem Zweck wurde die eine Hälfte des Systems beim T-Rohre abgeklemmt, dann *A* mit der Wasserstrahlpumpe verbunden und nun, nachdem alle Quetschhähne der Seite geöffnet waren, alle 3 Kulturflaschen zur gleichen Zeit kräftig evakuiert, nach ca. $^1/_4$ Stunde wurde der Hahn zum Stickstoffgasometer eine Spur geöffnet; während mit dem Evakuieren fortgefahren wurde, wurde so Stickstoffgas durch die Flüssigkeit gesaugt und damit noch vorhandener Sauerstoff nach Möglichkeit herausgespült. Nach ca. 10 Minuten wurde bei *A* geschlossen und die Wasserstrahlpumpe abgestellt, während der Hahn zum Stickstoffgasometer ein wenig geöffnet blieb, es füllte sich so der sauerstofffreie Raum schnell mit Stickstoffgas, der Quetschhahn bei *A* wurde dann wieder geöffnet und das Durchleiten von Stickstoff noch eine Zeitlang fortgesetzt, worauf man die Gaszuleitungsrohre der 3 Flaschen abquetschte und nun die andere Hälfte des Systems auf dieselbe Weise sauerstofffrei zu machen versuchte. Diese Versuchseinrichtung hat sich als tadellos funktionierend bewährt.

Der zur Verwendung gelangende Stickstoff wurde nach dem Verfahren von Schlösing gewonnen, in derselben Weise, wie Winogradsky dies tat und Haselhoff und Bredemann (1906) ausführlich beschrieben. Zunächst wurde Luft über mit konzentrierter Salzsäure befeuchtete Kupferspäne geleitet, dann über Natronkalk, darauf durch konzentrierte Schwefelsäure und endlich über glühende Kupferspiralen, wo sie von den letzten Sauerstoffspuren befreit wurde. Das so gewonnene Stickstoffgas wurde in einem vollkommen mit ausgekochtem Wasser angefüllten Gasometer mit tadellos gedichteten Hähnen aufgefangen und aus diesem dann in das System der Kulturflaschen direkt hineingedrückt.

2. Methode der Kultivierung im offenen Kolben.

Als Kulturgefäße wurden, um zu untersuchen, ob die Größe der mit der Luft in Kontakt befindlichen Oberfläche der Nährflüssigkeit von irgendwelchem Einflusse auf den Verlauf der Gärung oder die Stickstoffbindung ist, entweder Kjeldahl-Kolben mit langem engen Halse, die bis an den Hals mit Nährlösung gefüllt waren, so daß also nur eine ganz geringe Oberfläche mit der Luft in Berührung war, oder gewöhnliche Rundkolben von 500 bezw. 1000 ccm Kochinhalt, die dann mit 500 bezw. 1000 ccm gefüllt wurden und so der Luft eine große Berührungsfläche darboten.

Irgend ein Unterschied im Verlaufe der Gärung konnte in diesen verschiedenen Kolben nicht festgestellt werden, wie sich überhaupt, wie die nachstehenden Versuche zeigen werden, hinsichtlich der Stickstoffbindung kein spezifischer Unterschied zwischen den im Stickstoffstrome und den im offenen Kolben gehaltenen Kulturen herausgestellt hat.

Daß der Bac. amylobacter überhaupt imstande ist, unter scheinbar aëroben Bedingungen — im offenen Kolben — zu leben, darf nicht verwunderlich erscheinen. Wir haben allerdings gesehen, daß sein Maximum für Sporenkeimung bei ca. 30 mg Sauerstoff im Liter liegt, haben aber auch schon gesehen, daß eine kräftige, aus lauter jungen Stäbchen bestehende Kultur, nachdem man sie in völlig aërobe Bedingungen gebracht hat, im nur einige Millimeter hohen Kondenswasser des D-Agars noch zum Abschluß ihres Entwickelungszyklus kommen kann.

Diese Möglichkeit[1]) ist gegeben durch die Fähigkeit des Bac. amylobacter, bei einer Sauerstoffspannung von ca. 30 mg im Liter noch gut zu leben, dabei werden die der Oberfläche am nächsten befindlichen vegetativen Individuen für die in tieferen Schichten befindlichen günstigere Bedingungen schaffen, ohne daß sie unter diesen Verhältnissen bei starker Sauerstoffabsorption abzusterben brauchen, sondern sie können vielleicht bei ihrer großen Schwärmfähigkeit, sobald sie in zu sauerstoffreiche Schichten geraten, wieder tiefere Schichten aufsuchen, während neue Individuen an ihrer Stelle in die sauerstoffreicheren Schichten geraten, dort den Sauerstoff zum Teil absorbieren etc. Genau denselben Vorgang haben wir hier auch. Die Schichten der betreffenden Nährlösungen waren immerhin mindestens 7—7,5 cm (500 ccm), bezw. 9—10 cm (1000 ccm) tief, die Impfungen wurden mit aus allen Entwickelungsstadien bestehenden Kulturen vorgenommen, so daß also die vegetativen Formen sofort den Sauerstoff an sich reißen und so den Sporen oder auch anderen vegetativen Formen günstige Lebensbedingungen schaffen konnten; sobald dann erst eine einigermaßen kräftige Vegetation entstanden war, wurden naturgemäß die Lebensbedingungen immer günstiger, zumal es fast ausgeschlossen ist, daß größere Mengen von Sauerstoff in die Nährlösung hineindiffundieren können, da ja aus derselben heraus immer ein Durchstrom der aus CO^2 und H bestehenden Gärungsgase stattfindet und mit diesem ein Herausspülen des Sauerstoffes. Daß jedoch immer eine gewisse Menge Luft in die Flüssigkeit hineindiffundieren muß, ergibt sich aus dem Umstande, daß die in der Lösung wachsenden Bakterien den Stickstoff derselben binden, woher sollten sie ihn erhalten, wenn sie nicht mit der Luft in Berührung kämen?

Aus den eben ausgeführten Gründen erklärt es sich auch, weshalb man, wenn man ein sicheres Resultat im offenen Kolben haben will, stets mit größeren Mengen (2—5 ccm) einer gärenden Kultur impfen muß. Verwendet man nur einige Oesen, so tritt nur selten Gärung ein, Impfungen mit Sporenmaterial allein oder gleichzeitig anwesende vegetative Formen führen, wie auch Pringsheim beobachtete, unter diesen Verhältnissen nicht sicher zum Ziele, aus dem einfachen Grunde nicht, weil in der Nährlösung das Sauerstoffmaximum der Keimung überschritten ist. Als Pringsheim die Beobachtung machte, daß sein Bacillus im offenen Kolben Lösungen in Reinkultur vergären und Stickstoff assimilieren kann, glaubte er, daß sein Organismus an höhere Sauerstoffspannung angepaßt sei, als das Winogradskysche „Clostridium Pasteurianum". Wir halten jedoch unsere Erklärung für die Erscheinung der Gärung im offenen Kolben für die richtigere, denn daß von einer „Anpassung an höhere Sauerstoffspannung" nicht die Rede sein kann, geht daraus hervor, daß nach unseren Erfahrungen alle Formen, die wir benutzten, — auch die Pringsheims und Winogradskys — dauernd dasselbe Sauerstoffmaximum besaßen (s. Kap. III, p. 453).

Kulturflüssigkeit.

Als Nährlösung diente die Winogradskysche sogenannte stickstofffreie Lösung. Dieselbe wurde bereitet aus:

1,0 g Dikaliumphosphat K^2HPO^4
0,2 „ Magnesiumsulfat $MgSO^4$

---

1) Vergl. auch p. 457.

0,02 g Chlornatrium NaCl
0,01 „ Eisensulfat $FeSO^4$
0,01 „ Mangansulfat $MnSO^4$
1000 ccm Leitungswasser
20,0 g Dextrose, reinste wasserfreie Kahlbaum
10,0 „ Calciumkarbonat, gefälltes

Wenn von stickstofffreier Lösung die Rede ist oder war, ist stets eine Nährlösung obiger Zusammensetzung zu verstehen. Bisweilen wurde für besondere Zwecke der Kreidezusatz fortgelassen oder der Prozentgehalt der Kreide oder der Dextrose verändert, derartige Veränderungen werden stets besonders verzeichnet werden. Die Zusammensetzung der mineralischen Grundlösung blieb stets die gleiche.

Im übrigen ist es nicht ganz richtig, von stickstofffreier Lösung zu sprechen, denn geringe Mengen Stickstoff sind in derselben enthalten, wir haben uns aber gar keine weitere Mühe gegeben, eine wirklich stickstofffreie Lösung darzustellen. Die von uns benutzte Nährlösung enthielt (Mittel aus mehreren N-Bestimmungen):

in 1000 ccm der mineralischen Grundlösung	0,75	mg N
„ 10 g Dextrose	1,147	„ „
„ 10 „ Calciumkarbonat	3,275	„ „

Da es bei diesen Versuchen in der Hauptsache darauf ankam, die verschiedenen Stämme auf ihr Stickstoffbindungsvermögen hin untereinander zu vergleichen, habe ich mich lediglich darauf beschränkt, die Stickstoffsammlung in der herkömmlichen Weise in Nährlösung mit Dextrose als Kohlenstoffquelle zu untersuchen.

Neuerdings hat Pringsheim (1908) Untersuchungen über die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffs durch sein „Clostridium americanum“ angestellt. Er machte dabei die sehr interessante Beobachtung, daß man die Vergärung einer schwer angreifbaren Kohlenstoffquelle dadurch einzuleiten vermag, daß man zu den betreffenden Lösungen kleine Mengen Dextrose zufügt, wodurch er die Ausnutzung der ganzen zu prüfenden C-Quelle erreichte. Auf diese Weise konnte er Mannit und Milchzucker[1]) als Energiequelle ausnutzen, während er mit Glyzerin noch keine positiven Erfolge erzielte. Was die „Ausnutzung“ dieser Energiequellen anbelangt, so treten da offenbar Unterschiede nicht zutage (s. diesbezl. Tabelle p. 420).

Analytische Methode.

In den vergorenen Kulturen wurde meist nicht nur der Stickstoffgehalt bestimmt, sondern gleichzeitig die gebildeten flüchtigen Säuren und die Alkohole (über letztere beiden siehe auch nächstes Kapitel). Es wurde daher in folgender Weise verfahren.

Zuerst wurden einige Tropfen der vergorenen Flüssigkeit mittels Fehlingscher Lösung auf das Vorhandensein von noch unvergorenem Zucker geprüft, fiel das Resultat positiv aus, so wurde die gesamte Flüssigkeit auf das ursprüngliche Volumen gebracht, d. h. das während der Kulturzeit verdunstete Wasser ergänzt und von dieser Lösung nach kräftigem Umschütteln und gleichmäßigem Verteilen des Kreideniederschlages in der Flüssigkeit eine bestimmte Menge, die natürlich bei der späteren Berechnung auf Stickstoffgehalt und Säurebildung berücksichtigt wurde, zur quantitativen Zuckerbestimmung entnommen. Der Rest, oder wenn die Prüfung auf Zucker ein negatives Resultat ergeben hatte, die gesamte Flüssigkeitsmenge, welche, da stets Kreide im Ueberschuß vorhanden war, in allen Fällen vollkommen neutral bis schwach alkalisch reagierte, wurde dann zum Abtreiben der eventuell gebildeten Alkohole einer Destillation im Wasserdampfstrome unterworfen, wobei die zu destillierende Flüssigkeit erst dann mit direkter Flamme erhitzt wurde, wenn sie durch die Wasserdämpfe aus dem Dampfentwickler in Sieden geraten war. Zur Dampfentwickelung diente ammoniakfreies ausgekochtes gewöhnliches Leitungswasser. Die Destillation wurde so geregelt, daß die Menge der zu destillierenden Flüssigkeit immer annähernd gleich blieb. Sie wurde so lange fortgesetzt, bis ein etwa $^1/_{10}$ des Volumens der Flüssigkeit betragendes Destillat, also bei 1000 ccm Flüssigkeit 100 ccm Destillat erhalten war, oder wenn viele Alkohole gebildet waren, bis keine Oeltropfen im Kühler mehr bemerkt wurden. Dieses Destillat (I) würde also die Alkohole enthalten.

---

[1]) Vergl. auch den Abschnitt: „Vergärung verschiedener C-Quellen“, p. 83.

Der Destillationsrückstand, also die von Alkoholen befreite Lösung, wurde zur Isolierung der flüchtigen Säuren mit Schwefelsäure schwach ausgesäuert und die flüchtigen Säuren im Dampfstrome abgetrieben. Die Destillation wurde so geregelt, daß zuerst, bis (bei Verarbeitung von 1000 ccm Kulturflüssigkeit) ca. 500 ccm übergegangen waren, das Volumen der zu destillierenden Flüssigkeit annähernd gleich blieb, dann wurde die Erhitzung derselben so gesteigert, daß die Flüssigkeit, bis weitere 1000 ccm abdestilliert waren, allmählich auf ca. die Hälfte eindampfte. Im ganzen wurde annähernd die doppelte Menge der vorhandenen Kulturflüssigkeit an Destillat dargestellt, also bei Inangriffnahme von 1000 ccm Lösung 2000 ccm Destillat. Am Ende der Destillation reagierte das Uebergehende immer noch ganz schwach sauer.

Orla Jensen (1904) fand, daß bei Bestimmung der flüchtigen Säuren im Käse bei der wiederholten Destillation von 100 g Käsemasse ebenfalls nicht nur im zweiten Liter des Destillates, sondern auch in den folgenden Litern eine kleine Menge Säure vorhanden war. Dieselbe bestand jedoch nicht aus Fettsäuren (der zweite Liter enthielt höchstens eine Spur Ameisensäure), sondern aus Milchsäure, welche bekanntlich mit Wasserdämpfen schwach flüchtig ist, sie vollständig abzudestillieren, ohne überhitzte Wasserdämpfe anzuwenden, wäre aber eine endlose Arbeit.

Die beiden Destillate, das aus neutraler Lösung gewonnene, welches die Alkohole enthalten mußte (I) und das aus saurer Lösung gewonnene, in dem sich die flüchtigen Säuren befanden (Destillat II), wurden auf die später zu beschreibende Weise qualitativ und quantitativ näher untersucht (s. Kap. V).

Der nunmehr von den Alkoholen und flüchtigen Säuren befreite Destillationsrückstand wurde dann zur Stickstoffbestimmung verbrannt. Diese Verbrennung ist häufig mit Schwierigkeiten verbunden, einmal wegen des beim Einengen der reichlichen Menge Flüssigkeit erfolgenden Stoßens, dann auch wegen des oft noch hohen Zuckergehaltes. Diese Schwierigkeiten veranlaßten manche Autoren, nur geringe Teile der zu untersuchenden Flüssigkeit zur Verbrennung zu verwenden und dann die erhaltenen Werte auf die gesamte Lösung umzurechnen. Da man es nun im allgemeinen überhaupt nur mit sehr kleinen Stickstoffmengen zu tun hat, hielt ich es doch für richtiger, die gesamte Lösung zur Analyse zu verwenden, um die Fehlerquellen so klein wie möglich zu gestalten. Bei der von mir befolgten Arbeitsweise bot übrigens weder das Einkochen noch die Verbrennung irgendwelche Schwierigkeiten mehr, und es möge gestattet sein, die über diesen Punkt gesammelten Erfahrungen etwas eingehender mitzuteilen, denn es ist Verf. aus früheren Arbeiten über diesen Gegenstand noch lebhaft in Erinnerung, mit welch ärgerlichen Zufälligkeiten die Verbrennung verbunden sein kann, wenn man nicht gewisse Vorsichtsmaßregeln innehielt. Ein ganz glatter Verlauf der Analyse wurde erhalten in folgender Weise: Die saure von Alkoholen und flüchtigen Säuren befreite Lösung wurde noch heiß in den Zersetzungskolben übergespült und sofort unter Zusatz einiger Bimssteinstückchen mit großer Flamme eingekocht. Es erwies sich als sehr wesentlich, daß man vor dem Einkochen die Lösung nicht erkalten ließ, weil dann der aus den in Lösung befindlichen fettsauren Calciumsalzen gebildete Gips aus der Lösung oft in großen Kristallnadeln auskristallisiert und den glatten Verlauf des Einkochens sehr hindert. Je amorpher der Niederschlag ist, desto glatter geht das Einkochen von statten. Wenn sich die Flüssigkeit stärker zu bräunen beginnt, also die Wirkung der Schwefelsäure einsetzt, mäßigt man die Flamme und verbrennt in gewohnter Weise nach Kjeldahl, indem man eine genügende Menge Schwefelsäure und 2 Tropfen Quecksilber zufügt und mit mäßiger Flamme erhitzt, bis die Flüssigkeit ölig und braunrot wird, dann werden 5 g gepulvertes Kaliumsulfat zugegeben und nach dem völligen Farbloswerden noch $^1/_2$ Stunde bei mäßiger Flamme weiter erhitzt.

Ist viel Zucker vorhanden, so tritt mit dem Einsetzen der Schwefelsäurewirkung ein starkes und lästiges Schäumen ein, welches einen einwandfreien Verlauf der Verbrennung sehr beschwerlich macht. Ich verfuhr dann meist so, daß ich einen Teil der eingeengten zu verbrennenden Flüssigkeit aus den Zersetzungskolben ausgoß, den im Kolben verbleibenden Rest mit genügenden Mengen Schwefelsäure bis zum Oeligwerden erhitzte und dann den übrigen Teil in kleinen Portionen zufügte, jedesmal wartend, bis die Masse wieder ölig geworden war. Das Verfahren ist ja vielleicht des vielen Ueberspülens und Nachwaschens wegen etwas unbequem, gewährleistet aber ein sicheres Gelingen der Analyse.

Im allgemeinen wurde nach dieser Kjeldahl-Methode verbrannt. Handelte es sich darum, in Lösungen oder in Niederschlägen aus Lösungen, denen Ammoniumnitrat zugesetzt war, den Stickstoff zu bestimmen, so bediente ich mich der Methode von Jodlbaur.

Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure neutralisiert und im Kjeldahl-Kolben zunächst auf offener Flamme und dann weiter im Wasserbade zum Trocknen gedunstet[1]), dann wurden 30 ccm Phenolschwefelsäure (40 g kristallisiertes Phenol in 1 Liter konzentrierter Schwefelsäure von 60° Be) zugesetzt und nach mehrstündigem Stehen, während dessen der Trockenrückstand völlig von der Schwefelsäure durchdrungen war, allmählich 3 g stickstofffreier Zinkstaub eingetragen. Nach mehrstündiger Amidierung des Nitrophenols wurde dann nach weiterem Zusatz der nötigen Menge Schwefelsäure verbrannt.

Die nach der Kjeldahlschen bezw. nach der Jodlbaurschen Methode erhaltenen vollständig mineralisierten Lösungen wurden mit Wasser verdünnt, die Flüssigkeit samt Gipsniederschlag mit der nötigen Menge 33-proz. Natronlauge, die im Liter 20 g Schwefelkalium (K_2S) enthielt, und einigen zur Vermeidung von unnötigem Stoßen während der Destillation dienenden Stückchen Bimsstein versetzt und direkt aus dem Zersetzungskolben heraus mit Kühlung destilliert. Das Kühlrohr tauchte in die Säure ein. Als Vorlage diente ein großer Erlenmeyer-Kolben. Die Destillation geschah mit direkter Flamme, der Kolben wurde langsam angeheizt, die Destillation mit kleiner Flamme $^1/_2$ Stunde lang fortgesetzt und dann mit stärkerer Flamme weiter $^1/_4$ Stunde destilliert. Darauf stellte man die Vorlage tiefer, so daß das Destillationsrohr nicht mehr in die Säure eintauchte, und führte die Destillation noch eine weitere $^1/_4$ Stunde fort, im ganzen dauerte eine Destillation also 1 Stunde.

Es wurde darauf verzichtet, Normallösungen zu verwenden, sondern die betreffenden Lösungen wurden direkt auf ihren Stickstoffwert eingestellt nach dem Verfahren, welches sich in der Untersuchungspraxis der hiesigen agrikultur-chemischen Versuchsstation sehr gut bewährt hat.

Die Titerstellung des Stickstoffwertes der Lauge geschieht in der Weise, daß die durch schwefelsaures Ammoniak, Natriumkarbonat und Kaliumtetraoxalat als Titersubstanzen gelieferten Werte zur Berechnung des Titers dienen (Mittel aus 7—8 Bestimmungen)[2]). Als Indikator wurde Kongorot benutzt (2 g Kongorot werden in einem Gemisch von 250 ccm 96-proz. Alkohol und 250 ccm Wasser gelöst und nach völliger Lösung auf 1000 ccm gebracht.)

In den folgenden Zusammenstellungen der zahlreichen Analysenergebnisse will ich mich darauf beschränken, nur die fertig ausgerechneten Resultate anzugeben, um nicht die Uebersichtlichkeit der Tabellen durch eine Unmasse von Zahlen zu erschweren.

Daß bei allen Untersuchungen Kontrollbestimmungen in ungeimpften Parallelkolben ausgeführt wurden, welche Zahlen sich in den Tabellen als „Korrektur" angeführt finden, braucht wohl kaum erwähnt zu werden, ebensowenig, daß Blankobestimmungen mit den verwendeten Reagentien in genügender Zahl ausgeführt und verrechnet wurden; alle diese Ausführungen verstehen sich für jeden Analytiker von selbst.

Analysenergebnisse.

Die Hauptfrage war natürlich, zu entscheiden, ob überhaupt die selbst isolierten und die wieder zum Wachstum in stickstofffreier Nährlösung gebrachten Stämme ein Stickstoffbindungsvermögen besaßen, denn nur dann konnten sie Vertreter ein und derselben Species sein. Gleichzeitig stellten sich noch eine Anzahl Fragen heraus, deren Beantwortung nicht nur vom allgemeinen Standpunkte aus interessant erschien, sondern

---

1) Siehe hierzu Warmbolds Kontrollversuche (1906. p. 27).

2) Bezüglich der Einzelheiten siehe F. Mach, Die Bestimmung des Titers der für Stickstoffbestimmungen dienenden Lauge. (Die landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. LXIII. 1906. p. 71/81.)

auch gleichzeitig dazu diente, die verschiedenen Stämme weiter untereinander vergleichen zu können.

Der erste Versuch galt als Vorversuch; außer der Hauptfrage, ob überhaupt eine Stickstoffbindung stattfand, sollte noch entschieden werden, ob ein Unterschied in der Menge des fixierten Stickstoffes bestände, wenn die Kulturen im Stickstoffstrome oder im offenen Kolben gehalten würden. Gleichzeitig sollte ein eventueller Einfluß eines geringen Zusatzes gebundenen Stickstoffs zur stickstofffreien Nährlösung auf die Stickstoffgewinne geprüft werden, und endlich sollte kurz untersucht werden, ob der fixierte Stickstoff im Bakterienkörper abgelagert oder in die Flüssigkeit ausgeschieden würde.

Um letztere Frage zu entscheiden, wurde der Niederschlag, bestehend aus Kreide und Bakterienmasse, und die abfiltrierte Lösung getrennt verbrannt, vollkommen klar war letztere durch Filtrieren nicht zu erhalten, und es ist deshalb anzunehmen, daß ein Teil der in der Nährlösung gefundenen Stickstoffmengen von den durch das Filter gegangenen Bakterien herrührt (siehe p. 504).

Die Kolben wurden zum Teil bei 28°, zum Teil bei Zimmertemperatur gehalten (siehe Tabelle I), letztere schwankte während der Zeit des Versuches im allgemeinen zwischen 15—22° C.

Die übrige Anordnung des Versuches ergibt sich aus nachstehender Tabelle I.

Die Versuche wurden mit 2 Stämmen ausgeführt, welche sich seit einem Jahre (19. Dez. 1905 bis 4. Dez. 1906) in künstlicher, allerdings nicht sehr intensiver Kultur auf D-Agar befunden hatten, aber in stickstofffreier Nährlösung trotzdem noch Gärung hervorriefen; es waren dies die Stämme:

1) 56, aus einer Erde einer jungen Kakaopflanzung auf gerodetem Buschwald bei Soppo im Kamerungebirge,

2) 17a, aus einer Erde, die vor dem Ackern von der Oberfläche einer Reispflanzung bei Buitenzorg entnommen war.

Um genügende Mengen gärendes Impfmaterial zu haben, wurden kleinere Kolben mit stickstofffreier Nährlösung mit obigen, bereits zweimal aus derselben Nährlösung übergeimpften gärenden Kulturen reichlich geimpft und im Vakuum bei ca. 20° gehalten. Als nach einigen Tagen die Gärung lebhaft im Gange war, wurden diese lebhaft gärenden Kulturen zur Impfung verwendet, und zwar erhielt jeder Kolben mit 800 ccm Nährlösung 8 ccm, jeder mit 500 ccm Nährlösung 5 ccm des gärenden Impfmaterials.

Dieses Impfmaterial hatte folgendes mikroskopisches Aussehen.

Stamm 56. Alle Morphoden von ganz normalem, gesundem Aussehen. Meist schwärmende Stäbe, oft zu zweien, ferner schwärmende Sporangien und einige freie Sporen. Glykogen war in den Sporangien reichlich, in den Stäben wenig vorhanden.

Stamm 17a. Die Individuen zeigen bisweilen eine beginnende Degeneration, indem viele der Stäbe perlschnurartige Einschnürungen besitzen, oft sind diese in Zerfall begriffenen Stäbe zu mehreren in Ketten vereinigt, bei einigen ist der Zerfall in Mikrooidien bereits vollzogen. Neben diesen Degenerationsformen finden sich auch noch alle Morphoden von normaler Gestalt (vergl. hier die relativ geringe Stickstoffzunahme auf 1 g zersetztem Zucker).

Die Gärung setzte bei den im Stickstoffstrome und Zimmertemperatur gehaltenen Kulturkolben verschieden schnell ein, einige begannen bereits nach 8 Tagen, andere erst nach 14 Tagen zu gären, irgendeine Begünstigung durch die zugesetzten Stickstoffverbindungen wurde dabei nicht bemerkt.

Die bei 28° im offenen Kolben stehenden Kulturen zeigten meist bereits nach 4 Tagen Anzeichen des beginnenden Lebens. Einmal im Gange, wurde die Gärung in beiden Reihen ziemlich stürmisch und hielt ca. 3 Wochen hindurch unverändert heftig an, die Oberfläche der Flüssigkeit war dann von einer hohen Schaumschicht bedeckt. Allmählich hörte die Gasentwickelung wieder auf, nach 6 Wochen war in den mit Stamm 56 beimpften Kolben keine Gärung mehr bemerkbar, die mit 17a geimpften Flüssigkeiten gärten zum Teil noch schwach; in dieser Reihe wurde die eigentümliche Beobachtung gemacht, daß, nachdem nach ca. 7-wöchigem Verweilen im Brutschranke die Gärung aufgehört hatte, sie nach weiteren 8 Tagen plötzlich wieder einsetzte, in einigen Kolben, z. B. bei No. 5 und 6, sogar relativ stark. Nachdem die Kolben 92 bis 95 Tage gestanden hatten, war in keinem derselben mehr Gärung zu bemerken, nur bei No. 5 war noch schwache Gasentwickelung vorhanden. Die Untersuchung auf Zucker stimmte mit dieser Beobachtung überein, in allen Kolben war der Zucker verschwunden bis auf den Kolben No. 5 — Stamm 17a anaërob im N-Strome — in dem aus unbekannten Gründen nur die Hälfte des dargereichten Zuckers vergoren war.

Die mikroskopische Untersuchung der Niederschläge sämtlicher Kulturen nach der Vergärung ergab folgendes:

I. Stamm 56 Kamerun.

Kolben 1. Im Niederschlage massenhaft dicke, angeschwollene Stäbe, die sich mit Jod bis auf einen hellen polaren Fleck dunkelblau färben. Ferner kommen Stäbe ohne Glykogen und körnige angeschwollene Stäbe ohne Spore und ohne Glykogen vor. Beides sind wahrscheinlich abgestorbene oder absterbende Individuen. Vereinzelt finden sich auch reife Sporangien mit gut ausgebildeten Sporen.

Kolben 2. Annähernd ebenso.

Kolben 3. Meist Formen ohne Glykogen, Stäbe und Sporangien, auch einige freie Sporen mit anhängenden großen Resten der Mutterzellmembran. Vereinzelt auch Oidien mit Glykogen.

Kolben 4. Im Kreideniederschlage in kolossalen Massen freie Sporen mit „Kapsel“, ferner einige andere Morphoden, kein Glykogen.

II. Stamm 17a Buitenzorg.

Kolben 5. Im Kreideniederschlage sind nicht viele Bakterien zu finden, alle Morphoden, meist ziemlich lange Stäbe, ferner Sporangien und vereinzelte Sporen. Einige Mikrooidien und degenerierte Stäbe.

Kolben 6. Genau so.

Kolben 7. Meist Sporen mit anhängender Mutterzellmembran, sonst auch degenerierende Stäbe und Mikrooidien, vereinzelte Sporen und normale Stäbe, kein Glykogen.

Kolben 8. Genau so.

Kolben 9. Ebenso, überhaupt nur wenige Individuen im Niederschlage zu finden.

Die Analysenergebnisse sind nun in folgender Tabelle I p. 502—503 zusammengestellt.

Die Resultate sind interessant. Zuerst ergibt sich, daß in allen Kulturen eine nicht unerhebliche Stickstoffzunahme stattgefunden hat. Hinsichtlich der Menge des auf 1 g verarbeitete Dextrose[1]) assimilierten Stickstoffs lassen sich bei der im Stickstoffstrome und im offenen Kolben gehaltenen Kulturen keine wesentlichen Unterschiede erkennen. Ebenso verhält es sich bei den bei Zimmertemperatur und bei 28° gehaltenen Kulturen. Der stärkste Stickstoffgewinn auf 1 g Dextrose ist in denjenigen Kulturen zu verzeichnen, die in stickstofffreier Nährlösung ge-

---

1) Nachschrift: Hier wie im folgenden bezieht sich der relative Stickstoffgewinn stets auf 1 g des verarbeiteten Handelspräparates (Dextrose reinste wasserfreie Kahlbaum), der Glukosegehalt des Präparates ist nicht bestimmt worden. Krzemieniewski (1908. p. 1005) fand im Merckschen „Traubenzucker purissimum, wasserfrei“ 1906 und 1907 82,7 Proz. Glukose und brachte eine entsprechende Korrektur an.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle

No.	Geimpft mit	Zusammensetzung der Nährlösung	Geimpft am	Versuch abgebrochen am	Dauer des Versuches Tage	Bemerkung	N-Gehalt der ungeimpften gleich behandelten Kontrollkolben (Mittel aus 2 Bestimmungen)
1	Stamm No. 56 Bac. amylobacter aus einer Kakaopflanzung im Kamerungebirge (bei Soppo)	Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0	4. Dez.	6. März	92	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	im Niederschlag 2,620 mg in dem Filtrat 2,435 „ Gesamt 5,055 mg
2		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0	4. Dez.	9. März	95	aërob im offenen Kolben bei 28°	im Niederschlag 1,637 mg im Filtrat 1,522 „ Gesamt 3,159 mg
3		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0 Amm.-Nitrat 0,5-proz. 8 ccm = 14 mg N	4. Dez.	6. März	92	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	im Niederschlag 2,620 mg im Filtrat 16,435 „ Gesamt 19,055 mg
4		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0 Asparaginlösung 1-proz. 8 ccm = 14,94 mg N	4. Dez.	6. März	92	ebenso	im Niederschlag 2,620 mg im Filtrat 17,375 „ Gesamt 19,995 mg
5	Stamm No. 17a Bac. amylobacter aus einer Reispflanzung bei Buitenzorg (Java)	Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0	4. Dez.	6. März	92	ebenso	im Niederschlag 2,620 mg im Filtrat 2,435 „ Gesamt 5,055 mg
6		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0	4. Dez.	9. März	95	aërob im offenen Kolben bei 28°	im Niederschlag 1,637 mg im Filtrat 1,522 „ Gesamt 3,159 mg
7		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0 Amm.-Nitrat 0,5-proz. 5 ccm = 8,75 mg N	4. Dez.	9. März	95	ebenso	im Niederschlag 1,637 mg im Filtrat 10,272 „ Gesamt 11,909 mg
8		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0 Asparaginlösung 1-proz. 5 ccm = 9,34 mg N	4. Dez.	9. März	95	ebenso	im Niederschlag 1,637 mg im Filtrat 10,862 „ Gesamt 12,499 mg
9		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 5,0 Asparaginlösung 1-proz. 8 ccm = 14,94 mg	4. Dez.	6. März	92	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	im Niederschlag 2,620 mg im Filtrat 17,357 „ Gesamt 19,995 mg

I.

N-Gehalt der Kulturen nach Beendigung des Versuches	Zunahme (+) bezw. Abnahme (—) der Nährlösung an N	Zuckerrest der vergorenen Flüssigkeit g	Verarbeitete Menge Dextrose g	Auf 1 g verarbeit. Dextrose sind assimiliert mg N	Bemerkungen
im Niederschlag 15,570 mg im Filtrat 7,099 „ Gesamt **22,669** mg	im Niederschlag + 12,950 mg im Filtrat + 4,664 „ Gesamt + **17,614** mg	0	16,0	1,10	—
im Niederschlag 13,460 mg im Filtrat 9,020 „ Gesamt **22,480** mg	im Niederschlag + 11,823 mg im Filtrat + 7,498 „ Gesamt + **19,321** mg	0	10,0	1,93	—
im Niederschlag 21,880 mg im Filtrat 7,048 „ Gesamt **28,928** mg	im Niederschlag + 19,260 mg im Filtrat — 9,387 „ Gesamt + **9,873** mg	0	16,0	0,62	—
im Niederschlag 21,100 mg im Filtrat 10,830 „ Gesamt **31,930** mg	im Niederschlag + 18,480 mg im Filtrat — 6,545 „ Gesamt + **11,935** mg	0	16,0	0,75	—
im Niederschlag 12,550 mg im Filtrat 5,254 „ Gesamt **17,904** mg	im Niederschlag + 9,930 mg im Filtrat + 2,819 „ Gesamt + **12,749** mg	6,18	9,82	1,30	Infektion mit Aspergillus, dünner Pilzrasen auf der Oberfläche
im Niederschlag 4,257 mg im Filtrat 5,512 „ Gesamt **9,769** mg	im Niederschlag + 2,620 mg im Filtrat + 3,990 „ Gesamt + **6,610** mg	0	10,0	0,66	—
im Niederschlag 10,410 mg im Filtrat 6,171 „ Gesamt **16,581** mg	im Niederschlag + 8,773 mg im Filtrat — 4,101 „ Gesamt + **4,672** mg	0	10,0	0,47	Die Nährflüssigkeit gibt nach der Vergärung noch deutliche Nitratreaktion mit Diphenylamin
im Niederschlag 10,270 mg im Filtrat 6,526 „ Gesamt **16,796** mg	im Niederschlag + 8,633 mg im Filtrat — 4,336 „ Gesamt + **4,297** mg	0	10,0	0,43	—
im Niederschlag 17,420 mg im Filtrat 8,164 „ Gesamt **25,584** mg	im Niederschlag + 14,800 mg im Filtrat — 9,211 „ Gesamt + **5,589** mg	0	16,0	0,35	—

züchtet wurden, während hier ein Zusatz von kleinen Initialmengen gebundenen Stickstoffs den Stickstoffgewinn bis auf die Hälfte herabdrückte (vergl. hiermit spätere Versuche, die das Gegenteil ergaben, Tab. IV). Den größten Stickstoffgehalt weist der Niederschlag, welcher die Hauptmasse der Bakterien enthält, auf, immerhin enthielt die Lösung auch nicht unerhebliche Mengen, ca. halb soviel wie der Niederschlag[1]).

Alle diese Resultate stimmen im wesentlichen mit den von Winogradsky und Pringsheim erhaltenen gut überein.

Während der Stickstoffgehalt des Niederschlages sich stets nicht unerheblich vermehrt hatte, ist in denjenigen Fällen, in denen gebundener Stickstoff zur Nährlösung zugesetzt wurde, in der Lösung selbst eine Abnahme an Stickstoff, dafür aber eine um so stärkere Zunahme im Niederschlage zu konstatieren, eine Erscheinung, die sich dadurch erklären ließe, daß die Bakterien den in der Nährlösung vorhanden gewesenen Stickstoff zum Teil zum Aufbau ihrer Leibessubstanz verbraucht hätten.

Ich möchte mich hier mit einer kurzen Registrierung der sich aus den Analysen ergebenden Tatsachen begnügen, um unten alle bei den diesbezüglichen Versuchen beobachteten Verhältnisse noch einmal zusammenfassend zu referieren.

Versuchsreihe II.

Zu diesem Versuche dienten 3 Stämme, welche durch „Erdpassage“ wieder gekräftigt waren. Es sind dieses:

1) Stamm 78, aus einem Felde der Mark Brandenburg, welches 1903 mit Hafer, 1904 mit Rotklee bestellt gewesen war und 1905, zur Zeit der Entnahme der Erde, als Weide diente. Dieser Stamm befand sich seit 1 Jahre (19. Dez. 1905 bis 30. Jan. 1907) in lebhafter Kultur auf D-Agar.

2) Stamm 84, aus Erde von einem Termitenhaufen im Distrikt Vizagapatam in Ostindien, seit fast 10 Monaten in Kultur auf D-Agar (25. März 1906 bis 30. Jan. 1907).

3) Stamm 119, aus Ackererde eines Feldes bei Hammerfest in Norwegen, seit 7 Monaten (6. Juli 1906 bis 30. Jan. 1907) in Kultur auf D-Agar.

Nach Verlauf der angegebenen Kultivierungszeit waren die 3 Stämme so „geschwächt“, daß Ueberimpfungen in stickstofffreier Nährlösung nicht immer positive Resultate gaben. Trat einmal Gärung in stickstofffreier Nährlösung ein, so war dieselbe äußerst schwach und kam schnell wieder zum Stillstand. Es wurde daher versucht, sie in der Weise, wie beim Abschnitt „Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens“ auseinandergesetzt wurde, durch „Erdpassage“ wieder zu kräftigen. 6 Tage alte, aus 5 Minuten bei 80° erhitztem Sporenmateriale auf D-Agar bei 1 mg Sauerstoff und 28° gewachsene Kulturen, die bei allen 3 Stämmen aus allen Morphoden bestanden, wurden in sterilem Wasser aufgeschwemmt und in die sterile Erde übertragen (Kontrolle auf absolute Sterilität selbstverständlich!). Nach ca. 3 Monaten (30. Jan. bis 24. April) wurden

---

1) Ob der in der Lösung gefundene Stickstoff wirklich nur von den eventuell durch das Filter gegangenen Zellen herrührt, scheint mir zweifelhaft. Auch Lipman (1907) und Krzemieniewski (1908) fanden in von Azotobacter-Zellen getrennten Lösungen nicht unerhebliche Mengen Stickstoff; ob diese Stickstoffverbindungen aus den lebenden Zellen oder nur aus einigen bereits abgestorbenen in die Lösung hineingekommen seien, vermochte letzterer nicht zu entscheiden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

von diesen geimpften Erden, welche bei gewöhnlichem Luftzutritt und Zimmertemperatur gestanden hatten und inzwischen ganz ausgetrocknet waren, ca. 2 g in mit stickstofffreier Nährlösung beschickte Reagensgläser gebracht und diese bei 28° gehalten. Sämtliche Kulturen waren innerhalb 24 Stunden in voller Gärung. Inzwischen angelegte Kontrollkulturen aus der Erde auf D-Agar, aërob wie anaërob, zeigten die Reinheit der Kulturen an. Von den gärenden stickstofffreien Nährlösungen mit der Erde wurden am 27. April einige Kubikzentimeter in neue Nährlösung übertragen, auch diese begann nach 1—2 Tagen lebhaft zu gären. Diese gärende zweite Impfung diente als Impfmaterial für die folgende Versuchsreihe.

Wir beabsichtigten gleichzeitig, die Ergebnisse der Versuchsreihe I nochmals zum Teil zu kontrollieren. Es wurden daher wieder zwei Paralellreihen, die eine im offenen Kolben, die andere mit Durchleitung eines Stickstoffstromes angesetzt. Ferner wurden bei einigen Kulturen wieder geringe Mengen gebundenen Stickstoffs in Form von Pepton bezw. Ammoniumnitrat zugesetzt und endlich wurde bei einer Reihe (Kolben 7, 8, 9 der Tabelle II) der Kreidezusatz fortgelassen.

Alle Kolben standen bei Zimmertemperatur, die im allgemeinen zwischen 15 und 22° schwankte.

Nach erfolgter Impfung wurden alle Kolben, auch die, die später im Stickstoffstrome gehalten werden sollten, zuerst 48 Stunden in den Brutschrank bei 28° gesetzt, wo in sämtlichen die Gärung bereits nach spätestens 30 Stunden begann und nach 48 Stunden schon kräftig war. Die Gärung dauerte bei allen Kulturen auffallend lange an, noch nach 4 Wochen war die Gasentwickelung unvermindert lebhaft, ausgenommen die Reihe ohne Kreidezusatz, die bald zum Abschluß kam und nach 4 Wochen keine Gärungserscheinungen mehr erkennen ließ. Als — aus äußeren Gründen — nach 4 bezw. bei einigen nach 6 Monaten zur Analyse geschritten wurde, war in keiner der Kulturen mehr Gasentwickelung bemerkbar, trotzdem war die größte Menge der Dextrose noch unangegriffen vorhanden, wie nachstehende Tabelle II, in der auch die Ergebnisse der Stickstoffbestimmungen und die Anordnung der Versuche zusammengestellt sind, zeigt.

(Siehe Tabelle II p. 506.)

Die Resultate decken sich im allgemeinen mit denen der Tabelle I. Auch hier ist hinsichtlich des Stickstoffgewinnes auf 1 g zersetzte Dextrose kein auffälliger Unterschied vorhanden in den aëroben und anaëroben Kulturen. Vergleicht man die bei beiden Gärungen in den Nährlösungen gewonnenen Gesamtstickstoffmengen direkt, so zeigt sich hier, daß im allgemeinen bei gleicher Reihe die aëroben durchweg mehr assimiliert haben, als die anaëroben, während in der vorigen Tabelle, wenn nicht ein Ueberschuß zugunsten der aëroben herrschte, annähernd Gleichheit vorhanden war. Ebenso sind hier, wie in der ersten Versuchsreihe, die Stickstoffgewinne auf 1 g zersetzte Dextrose in denjenigen Kulturen, die in stickstofffreier Nährlösung gezogen wurden, bedeutend erheblicher, als in denen, welche kleine Mengen Pepton zugesetzt erhielten, ein Zusatz von Ammoniumnitrat blieb hier ohne bemerklichen Einfluß, während derselbe beim ersten Versuch den Stickstoffgewinn erniedrigte. Interessant ist das Ergebnis der Reihe, welche keinen Kreidezusatz erhielt (Kolben 7, 8, 9), hier sind merkwürdigerweise die Stickstoffgewinne — immer auf 1 g vergorenen Zucker berechnet — auffallend hoch, bis 6,8 mg pro

Tabelle II.

No.	Geimpft mit Stamm	Nährlösung (mineral. Nährlösung + 2 Proz. Dextrose + 1 Proz. Kreide)	Dauer des Versuches Monate	Kulturbedingungen (Zimmertemperatur)	N-Gehalt der ungeimpften gleich behandelten Kontrollkolben (Mittel aus 3 Bestimmungen)	N assimiliert	Zuckerrest der vergorenen Flüssigkeit g	Verbrauchte Menge Dextrose g	Auf 1 g verbrauchter Dextrose sind assimiliert mg N
1	78 Brandenburg	800 ccm Nährlösg.	4	anaërob im N-Strome	Korrektur 5,053 mg	18,984 mg – 5,053 „ 13,931 mg	8,26	7,74	1,80
2	84 Indien				Korrektur 5,053 mg	22,909 mg 5,053 „ 17,856 mg	7,33	8,67	2,06
3	119 Norwegen				Korrektur 5,053 mg	18,870 mg 5,053 „ 13,817 mg	8,59	7,41	1,87
4	78	800 ccm Nährlösg.	6	aërob im offenen Kolben	Korrektur 5,053 mg	25,680 mg 5,053 „ 20,627 mg	9,07	6,93	2,98
5	84	700 ccm Nährlösg.			Korrektur 4,424 mg	40,800 mg 4,424 „ 36,376 mg	0	14,00	2,60
6	119	800 ccm Nährlösg.			Korrektur 5,053 mg	30,376 mg 5,053 „ 25,323 mg	4,93	11,07	2,29
7	78	500 ccm Nährlösung ohne Kreidezusatz	6	aërob im offenen Kolben	Korrektur 1,522 mg	13,414 mg 1,522 „ 11,892 mg	7,88	2,12	5,61
8	84					14,537 mg 1,522 „ 13,015 mg	8,05	1,95	6,67
9	119					13,692 mg 1,522 „ 12,170 mg	8,13	1,87	6,51
10	78	800 ccm Nährlösung mit 1 Proz. Kreide und 12,770 mg N als Pepton	4	anaërob im N-Strome	Korrektur 5,053 mg Pepton-N 12,770 „ 17,823 mg	27,880 mg 17,823 „ 10,057 mg	5,00	11,00	0,91
11	84					24,397 mg 17,823 „ 6,574 mg	6,90	9,10	0,72
12	119					25,455 mg 17,823 „ 7,632 mg	7,66	8,34	0,91
13	78[1]	500 ccm Nährlösung mit 1 Proz. Kreide und 7,983 mg N als Pepton	4	aërob im offenen Kolben	Korrektur 3,159 mg Pepton-N 7,983 „ 11,142 mg	17,795 mg 11,142 „ 6,653 mg	0	10,00	0,67
14	84					24,055 mg 11,142 „ 12,913 mg	0	10,00	1,29
15	119					15,090 mg 11,142 „ 3,948 mg	0	10,00	0,40

[1] Infektion mit einem Schimmelpilz, welcher auf der Oberfläche der Nährlösg. einen dünnen Rasen gebildet hatte.

No.	Geimpft mit Stamm	Nährlösung (mineral. Nährlösung + 2 Proz. Dextrose + 1 Proz. Kreide)	Dauer des Versuches Monate	Kulturbedingungen (Zimmertemperatur)	N-Gehalt der ungeimpften gleich behandelten Kontrollkolben (Mittel aus 3 Bestimmungen)	N assimiliert	Zuckerrest der vergorenen Flüssigkeit g	Verbrauchte Menge Dextrose g	Auf 1 g verbrauchter Dextrose sind assimiliert mg N
16	78	1000 ccm Nährlösung mit 1 Proz. Kreide und 3,500 mg N als Ammoniumnitrat	6	aërob im offenen Kolben	Korrektur 6,325 mg Ammon.-Nit.-N 3,500 „ 9,825 mg	57,230 mg 9,825 „ 47,405 mg	0	20,00	2,37
17	84					40,938 mg 9,825 „ 31,113 mg	5,80	14,20	2,19
18	119					Kolben verunglückt	6,20	13,80	?

1 g Dextrose. Bemerkenswert ist zugleich dabei, daß sie, wenn man die Gesamtstickstoffzunahme berücksichtigt, sich nicht anormal verhalten und annähernd ebensoviel gebunden haben, wie die Reihen mit Kreide. Im übrigen wird es auffällig sein, wie die jeweiligen 3 Analysen einer jeden der sechs verschiedenen Abteilungen dieser Versuchsreihe II untereinander beinahe vollkommen übereinstimmende Resultate ergeben haben, wie sich also die drei aus den verschiedensten Gegenden stammenden Stämme unter den jeweiligen Kulturverhältnissen gleich verhalten haben. Diese Ueberereinstimmung besteht sowohl in der Größe des Stickstoffgewinnes wie in der Menge des vergorenen Zuckers. In den Kolben 13, 14, 15 z. B. — aërob + Pepton — ist aller Zucker verschwunden; in 7, 8, 9 — aërob ohne Kreide und ohne Pepton — sind von allen 3 Stämmen durchschnittlich 20 Proz. vergoren, während in den Kolben 1, 2 und 3 je ca. 50 Proz. des Zuckers zersetzt worden sind.

Ich werde auf alle diese Verhältnisse unten zu sprechen kommen und beschränke mich jetzt darauf, die Ergebnisse der weiteren Versuche über die Stickstoffbindung der verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter mitzuteilen.

Versuchsreihe III und IV.

Da die vorstehenden beiden Versuchreihen Widersprüche hinsichtlich des Einflusses eines anfänglichen Zusatzes von gebundenem Stickstoff zur Nährlösung auf die Menge des auf 1 g vergorene Dextrose gebundenen Stickstoff ergeben hatten, war es interessant, Aufschluß über diese Frage zu erhalten. Es wurde daher eine neue Versuchsreihe vorbereitet, bei der zur stickstofffreien Nährlösung verschieden große Mengen gebundenen Stickstoffs in Form von Pepton — von 3 mg bis 175 mg pro Liter — zugesetzt wurde. Gleichzeitig suchte ich Aufschluß über die günstigste Dextrosekonzentration zu erlangen.

Diese Versuche wurden ausgeführt:

1) Mit dem Winogradskyschen Originalstamm (Stamm A). Derselbe war im Januar 1903 von Herrn Prof. Winogradsky aus St. Petersburg übersandt; Sporenmaterial von demselben war seit dieser Zeit in stickstofffreier Nährlösung in zugeschmolzenen sauerstofffreien Glasröhrchen aufbewahrt worden. Der Inhalt des Röhrchens

wurde auf mit Kreide eingeriebene sterile Kartoffeln übergeimpft und von da in stickstofffreie Nährlösung, in welcher eine allerdings allmählich einsetzende, dann aber stürmisch verlaufende Gärung eintrat. Diese lebhaft gärenden Kulturen wurden in neue stickstofffreie Nährlösung übertragen und diese, sobald sie wieder in kräftige Gärung geraten war, als Impfmaterial benutzt. Dasselbe bestand mikroskopisch meist aus lebhaft beweglichen angeschwollenen Stäben, einige enthielten reife Sporen in sich, ferner waren reichlich junge, nicht angeschwollene Stäbe vorhanden, einige von diesen zeigten Degenerationserscheinungen, zum Teil (selten) mikrooidienartigen Zerfall, zum Teil Krümmung. Alle Individuen, mit Ausnahme der Mikrooidien, enthielten etwas Glykogen.

2) Stamm 83, von Möhren aus Marburg. Dieser Stamm war seit ca. 12 Monaten — 19. Dez. 1905 bis Dezember 1906 — auf D-Agar in Kultur, war dann auf Kartoffel + Kreide übertragen und von da in stickstofffreie Nährlösung überimpft worden. In dieser hatte er ziemlich kräftige Gärung hervorgerufen. Diese kräftig gärende Lösung war in neue stickstofffreie Nährlösung überimpft worden, und diese diente dann, nachdem sie in kräftige Gärung geraten war, als Impfmaterial. Dasselbe bestand mikroskopisch aus vorwiegend kräftigen, zum Teil angeschwollenen Stäben, einigen reifen Sporangien und vereinzelten freien Sporen. Glykogen war nur wenig vorhanden.

Nachdem die Kolben geimpft waren, verblieben sie zunächst 3 Tage bei 28° im Thermostaten, um die Gärung in Gang zu bringen, darauf wurden sie alle aërob bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Temperatur schwankte annähernd zwischen 15—22° C. Die Gärung setzte bei 28° in den verschiedenen Kolben zwischen 12—60 Stunden ein, irgend eine Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Nährlösung war auch hier nicht zu bemerken. „Clostridium Pasteurianum“ zeigte den regelmäßigsten Verlauf der Gärung; in den stickstofffreien Nährlösungen und in der mit Ammoniumnitrat war die Gärung in allen Fällen nach 6 Wochen beendet, außer bei 4,0 Proz. Dextrose, in welcher Lösung sie 8 Wochen andauerte. Bemerkenswert ist, daß die Gärung um so länger dauerte, je mehr Pepton die Nährlösung enthielt. Bei 1 ccm 1-proz. Peptonlösung = 1,6 mg N war sie nach 6 Wochen beendet, bei 5 ccm = 8 mg N nach 12 Wochen, bei 25 ccm = 40 mg N war sie nach 14 Wochen noch schwach im Gange, ebenso bei 100 ccm = 160 mg N, das Ende der Gärung wurde in letzteren beiden Fällen leider nicht notiert. In sämtlichen mit dem Stamm A „Clostridium Pasteurianum“ geimpften Kolben war, als zur Analyse geschritten wurde, aller Zucker verschwunden.

Einen viel unregelmäßigeren Verlauf nahm die Gärung beim Stamm 83. In den Kolben mit Peptongabe verlief dieselbe genau wie beim Stamm A, je mehr Pepton dargereicht war, desto länger hielt die Gärung an. In den Kolben ohne Stickstoffgabe und in dem mit Ammoniumnitrat war die Gärung nach 6 Wochen scheinbar ebenfalls zum Abschluß gekommen, wenigstens hörte das Aufsteigen von Gasblasen auf und die Flüssigkeit hatte sich geklärt, plötzlich, nach weiteren 3 Wochen, setzte die Gärung dann wieder ein, oft sogar mit verhältnismäßiger Heftigkeit, so daß sich die ganze Oberfläche der Lösung wieder mit einer dichten Schaumschicht bedeckte. Denselben Fall hatten wir schon beim Stamme 17a der Versuchsreihe I. Durch diesen Stamm 83 fand keine völlige Zersetzung des Zuckers statt, selbst nach fast 7-monatiger Kultur waren noch erhebliche Mengen Dextrose — bis $^2/_3$ der Initialmenge — unzersetzt ge-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

blieben (s. Tab. III und IV), eine Gärung war übrigens nach dieser Zeit nicht mehr zu beobachten.

Ich lasse jetzt zunächst als Tabelle III die Zusammenstellung der Ergebnisse über das Verhältnis der Dextrosekonzentration zum Stickstoffgewinn folgen und fasse dann in Tabelle IV die Analysenresultate der Versuche über den Einfluß der verschiedenen Größen initialer Mengen gebundenen Stickstoffs auf die Stickstoffbindung durch Bac. amylobacter zusammen.

Tabelle III.

(Offener Kolben bei Zimmertemperatur, ca. 18° C.)

No.	Geimpft mit	Dauer des Versuches	800 ccm min. Nährlösung +	N assimiliert mg	Verbrauchte Menge Dextrose in g	Auf 1 g verbrauchter Dextrose sind assimiliert mg N
1	Stamm A („Clostridium Pasteurianum Winogradsky“)	7. März bis 13. Juli	1 Proz. Dextrose u. 1 Proz. Kreide	17,111 Korrektur 5,055 12,056	8,0	1,21
2		7. März bis 25. Juli	2 Proz. Dextrose u. 1 Proz. Kreide	25,920 Korrektur 5,055 20,865	16,0	1,30
3		7. März bis 25. Juli	4 Proz. Dextrose u. 2 Proz. Kreide	34,230 Korrektur 8,510 25,720	32,0	0,80
4	Stamm 83, Bac. amylobacter von Möhren aus Marburg	4. März bis 23. Juli	1 Proz. Dextrose u. 1 Proz. Kreide	27,810 Korrektur 5,055 22,755	8,0	2,84
5		4. März bis 23. Juli	2 Proz. Dextrose u. 1 Proz. Kreide	Kolben verunglückt (noch ziemlich viel Zucker vorhanden)		
6		4. März bis 24. Juli	4 Proz. Dextrose u. 2 Proz. Kreide	16,330 Korrektur 8,510 7,820	11,15	0,70

Aus der Tabelle III folgt, daß unter den gegebenen Bedingungen die günstigsten Stickstoffausbeuten auf 1 g Zucker bei Konzentrationen von 1—2 Proz. Dextrose erzielt wurden, bei 4 Proz. fiel der Stickstoffgewinn bis auf $^1/_4$ und zwar bei beiden Stämmen ganz gleichmäßig.

Die Ergebnisse der Tabelle IV stehen mit den bisherigen Erfahrungen im Widerspruch, es wurde hier auch bei Darreichung sehr großer Mengen Stickstoffs ein erheblicher Stickstoffgewinn auf 1 g zersetzte Dextrose erzielt, der höher ist als der in der stickstofffreien Nährlösung (vergl. hier No. 2 und 4 der Tab. III). So assimilierte der Winogradskysche Stamm in stickstofffreier Nährlösung auf 1 g zersetzter Dextrose 1,3 mg N, bei Zusatz von Ammoniumnitrat war der Gewinn ebenso groß (1,5 mg), während ein geringer Zusatz von Pepton den Gewinn auf 2,1 mg erhöhte, bei 8 und 40 mg N in Form von Pepton betrug er annähernd dasselbe wie in stickstofffreier Lösung: 1,8 bezw. 1,7 mg, während bei Zugabe der reichlichen Menge von 160 mg kein Stickstoffgewinn zu konstatieren war, es wurde sogar ein Gesamtverlust

Tabelle IV.

(Offener Kolben bei Zimmertemperatur, ca. 18° C.)

No.	Geimpft mit	Dauer des Versuchs	Nährlösung (2 Proz. Dextrose) 1 Proz. Kreide	N-Gehalt der ungeimpften gleich behandelten Kontrollkolben (Mittel aus 3 Bestimmungen)	N assimiliert	Dextroserest der vergorenen Flüssigkeit g	Verbrauchte Menge Dextrose g	Auf 1 g verbrauchter Dextrose sind assimiliert mg N
1	Stamm a („Clostridium Pasteurianum Winogradsky“)	7. III. bis 23. VII.	1000 ccm Nährlösung + 3,5 mg N als Ammoniumnitrat	Korrektur 6,325 mg Am.-Nitr.N 3,500 „ Gesamt 9,825 mg	39,520 mg — 9,825 „ + 29,695 mg	0	20,00	1,49
2		7. III. bis 25. XI.	500 ccm Nährlösung + 1,6 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 1,600 „ Gesamt 4,764 mg	25,420 mg — 4,764 „ + 20,656 mg	0	10,00	2,07
3		7. III. bis 20. XI.	500 ccm Nährlösung + 7,983 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 7,983 „ Gesamt 11,147 mg	29,570 mg — 11,147 „ + 18,423 mg	0	10,00	1,84
4		7. III. bis 25. XI.	500 ccm Nährlösung + 39,915 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 39,915 „ Gesamt 43,079 mg	60,110 mg — 43,079 „ + 17,031 mg	0	10,00	1,70
5		7. III. bis 17. XI.	900 ccm Nährlösung + 159,965 mg N als Pepton	Korrektur 5,688 mg Pepton-N 159,965 „ Gesamt 165,653 mg	162,700 mg — 165,653 „ — 2,953 mg	0	10,00	?
6	Stamm 83. Bac. amylobacter von Möhren aus Marburg	4. III. bis 23. VII.	1000 ccm Nährlösung + 3,5 mg N als Ammoniumnitrat	Korrektur 6,325 mg Am.-Nitr.N 3,500 „ Gesamt 9,825 mg	27,020 mg — 9,825 „ + 17,195 mg	7,83	12,17	1,41
7		4. III. bis 25. XI.	500 ccm Nährlösung + 1,6 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 1,600 „ Gesamt 4,764 mg	27,420 mg — 4,764 „ + 22,656 mg	6,25	3,75	6,02
8		4. III. bis 25. XI.	500 ccm Nährlösung + 7,983 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 7,983 „ Gesamt 11,147 mg	25,730 mg — 11,147 „ + 14,583 mg	5,50	4,50	3,24
9		4. III. bis 25. XI.	500 ccm Nährlösung + 39,915 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 39,915 „ Gesamt 43,079 mg	59,950 mg — 43,079 „ + 16,871 mg	6,00	4,00	4,22
10		4. III. bis 28. XI.	500 ccm Nährlösung + 79,825 mg N als Pepton	Korrektur 3,164 mg Pepton-N 79,825 „ Gesamt 82,989 mg	93,720 mg — 82,989 „ + 10,731 mg	6,10	3,90	2,75

von 3 mg gefunden, doch ist diese Zahl ohne Frage auf einen Analysenfehler zurückzuführen, weil durch **Bac. amylobacter** keine Zersetzung des Peptons beobachtet wurde (s. p. 467). Noch günstiger wirkte der Peptonzusatz beim Stamm 83. Hier betrug der Stickstoffgewinn in stickstofffreier Nährlösung pro Gramm vergorener Dextrose 2,8 mg, bei Zusatz von 1,6 mg N als Pepton stieg er auf 6 mg, um dann bei größerer Peptongabe wieder auf den ursprünglichen Stickstoffgewinn in stickstofffreier Nährlösung zurückzugehen. Diese Resultate sind interessant und stehen nicht mit den allgemein vertretenen Anschauungen in Einklang, daß die stickstoffbindenden Bakterien ihre stickstoffbindende Tätigkeit gleichsam nur „im Falle der Not“ ausüben.

Versuchsreihe V.

Nachdem so der Nachweis erbracht war, daß die von mir aus den verschiedenen Weltgegenden isolierten verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter unter den verschiedensten Verhältnissen imstande sind, den freien atmosphärischen Stickstoff ebenso zu binden, wie das vom „Clostridium Pasteurianum“ Winogradsky, vom „Clostridium americanum“ Pringsheim und von den „stickstoffassimilierenden Clostridien“ von Haselhoff und Bredemann bekannt war, ging ich jetzt dazu über, zu untersuchen, ob auch die in der Literatur unter verschiedenen Namen beschriebenen hierher gehörenden Vertreter, deren Identität mit dem Bac. amylobacter bis auf die Fähigkeit der Stickstoffbindung festgestellt war, unter geeigneter Behandlung zu einer Stickstoffassimilation zu bringen wären.

Ich habe bereits im Abschnitt „Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens“ p. 487 auseinandergesetzt, wie es gelungen war, alle alten Originalstämme durch geeignete Behandlung wieder zum kräftigen Wachstum in stickstofffreier Nährlösung zu bringen. Dann haben die Analysenresultate der Versuchsreihe II gezeigt, daß die selbst isolierten Stämme, die durch künstliche Kultur so abgeschwächt waren, daß sie in stickstofffreier Nährlösung nicht mehr wachsen konnten und die dann durch geeignete Behandlung diese Fähigkeit wiedererlangt hatten, gleichzeitig mit dieser Fähigkeit auch ihre Stickstoffassimilation in stickstofffreier Nährlösung wieder ausübten. Es war daher von Anfang an wahrscheinlich, daß die unter verschiedenen Namen bekannten hierhin gehörenden Vertreter, deren sonstige Identität mit dem Bac. amylobacter ja schon nachgewiesen war, sich nicht anders verhalten würden, nur war es fraglich, ob sie diese ihre Wirksamkeit ebenso leicht wiedergewinnen würden, wie die relativ jungen Stämme. Daß sie dieses Stickstoffbindungsvermögen ebenso leicht wiedergewinnen, wie jene, zeigt nachstehender Versuch, zu dem die folgenden Originalstämme herangezogen wurden:

Stamm E (Bac. amylobacter I Gruber).
„ F (Bac. saccharobutyricus v. Klecki).
„ H (Granulobacter butylicum Beijerinck).
„ J (Granulobacter pectinovorum Beijerinck und van Delden).

Die „Auffrischung“ geschah in der früher geschilderten Weise mittels Passage durch im Autoklaven sterilisierter Erde, welche in diesem Falle nach der Impfung ca. 3 Monate bei 1 mg Sauerstoff und 28° und darauf weitere 4 Wochen bei gewöhnlicher Temperatur und Luftzutritt gehalten worden war. Die Erde war vor der Impfung auf Sterilität untersucht worden durch Anlage von Kontrollröhrchen mit stickstofffreier Nährlösung, Bouillon und D-Agar, welch letztere sowohl aërob wie anaërob gehalten wurden; auch nach erfolgter Passage wurde die Kultur wieder auf Reinheit geprüft, ebenso die vergorenen zur Stickstoffbindung gelangenden Kulturen. Ich betone diese an sich ja selbstverständlichen Dinge nochmals deshalb ausdrücklich, um jeglichem Zweifel an der Reinheit meiner Kulturen entgegenzutreten.

Kleine Mengen (ca. 1 g) dieser mit den verschiedenen Stämmen geimpften Erden wurden in stickstofffreie Nährlösung gebracht — No. 1 „Gran. pectinovorum“, No. 4 „Gran. butylicum“ und No. 7 „Bac. amylobacter I“ Gruber stammen aus einer anderen Erdpassage als die übrigen Versuche mit den betreffenden Stämmen — die mit der Erde beimpften Röhrchen wurden bei 28° direkt bei vollem Luftzutritt aufbewahrt —. Bereits nach 24 Stunden war die Gärung in allen Röhrchen im Gange und nahm nach 2—3 Tagen einen stürmischen Charakter an. Als die Gärung im vollen Gange war, wurden ca. 5 ccm dieser gärenden Lösung direkt zur Impfung verwendet[1]). Die geimpften Kolben blieben

Tabelle V.

(Offener Kolben bei Zimmertemperatur. 1000 ccm N-freie Nährlösung mit 2 Proz. Dextrose und 1 Proz. Kreide.)

No.	Geimpft mit	Dauer des Versuches	N assimiliert mg	Dextroserest der vergorenen Flüssigkeit g	Verbrauchte Menge Dextrose g	Auf 1 g verbrauchte Dextrose sind assimiliert mg N
1	Stamm J „Granulobacter pectinovorum“ Beijerinck und van Delden	13. Aug. bis 25. Sept. 1907	59,03 mg — Korrekt. 6,32 „ 52,71 mg	0	20	2,64
2		7. Okt. bis 12. Nov. 1907	54,83 mg — Korrekt. 6,32 „ 48,51 mg	0	20	2,43
3		7. Okt. bis 12. Nov. 1907	56,21 mg — Korrekt. 6,32 „ 49,89 mg	0	20	2,50
4	Stamm H „Granulobacter butylicum“ Beijerinck	13. Aug. bis 25. Sept. 1907	51,05 mg — Korrekt. 6,32 „ 44,73 mg	0	20	2,24
5		7. Okt. bis 12. Dez. 1907	49,24 mg — Korrekt. 6,32 „ 42,92 mg	0	20	2,15
6		7. Okt. bis 12. Dez. 1907	56,09 mg — Korrekt. 6,32 „ 49,77 mg	0	20	2,49
7	Stamm E „Bac. amylobact. I“ Gruber	13. Aug. bis 25. Sept. 1907	52,46 mg — Korrekt. 6,32 „ 46,14 mg	0	20	2,31
8	Stamm F „Bac. saccharobutyricus“ v. Klecki	7. Okt. bis 12. Dez. 1907	48,41 mg — Korrekt. 6,32 „ 42,09 mg	0	20	2,10
9		7. Okt. bis 12. Dez. 1907	50,80 mg — Korrekt. 6,32 „ 44,48 mg	0	20	2,22

---

[1]) Leider ist es versehentlich versäumt worden, den Stickstoffgehalt der Impfflüssigkeit zu bestimmen, so daß derselbe nicht in Abzug gebracht werden konnte. Ein Röhrchen enthält ca. 10 ccm N-freie Nährlösung, von dieser Menge wurde ca. die Hälfte = 5 ccm zur Impfung benutzt. Der N-Gehalt der Erde betrug in 1 g = 2,7 mg, selbst

bei gewöhnlichem Luftzutritt 4 Wochen lang im Brutschrank bei 28° stehen und wurden dann analysiert mit Ausnahme der Kolben 5, 6, 8, 9, bei denen die Analyse nicht sofort ausgeführt werden konnte und die weitere 4 Wochen lang bei Zimmertemperatur stehen blieben. Die Gärung begann meist nach annähernd 48 Stunden, bei Beendigung des Versuches war sie vollkommen beendet und der Zucker restlos verschwunden.

In nebenstehender Tabelle sind die Resultate der Stickstoffbestimmungen zusammengestellt.

(Siehe nebenstehende Tabelle V p. 512.)

Der Versuch zeigt, daß alle untersuchten Originalstämme durch die „Auffrischung" nicht nur wieder die Fähigkeit erhalten haben, in stickstofffreier Nährlösung kräftige Gärungserscheinungen hervorzurufen, sondern in derselben auch gleichzeitig eine ziemlich erhebliche Menge von atmosphärischem Stickstoff zu binden. Auffällig ist die große Uebereinstimmung der Resultate, welche bei diesen aus zwei getrennten Versuchsreihen (Kolben 1, 4, 7 einerseits und 2, 3, 5, 6, 8, 9 andererseits) bestehenden Versuchen gewonnen wurden. Die Schwankungen der auf 1 g Dextrose berechneten Stickstoffgewinne sind so gering, daß sie praktisch als völlig gleich angesehen werden können. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Bedingungen, unter denen diese Kulturversuche angestellt wurden, in jeder Richtung für alle diese Stämme gleich waren.

Endlich sei noch ein Versuch angeführt mit einer Nährlösung, die statt Dextrose 2 Proz. Rohrzucker enthielt. Zum Versuche diente der durch „Erdpassage" gekräftigte Stamm 84 Ostindien, der auch zu der Versuchsreihe II (s. p. 504) benutzt worden war.

Die offenen Kolben standen vom 13. März bis 22. Juni bei 28° und dann bis 20. Juli bei Zimmertemperatur.

Nährlösung	Bemerkung	N assimiliert mg	Zuckerrest der vergorenen Flüssigkeit	Mithin verarbeitete Menge Rohrzucker	Auf 1 g verarbeitet. Rohrzucker sind assimiliert mg N
1000 ccm	Geimpft 13. März. Beginn der Gärung 25. März. Versuch abgebrochen 20. Juli (keine Gärung mehr)	16,13 mg Korrektur 4,75 „ 11,38 mg	12,66 g Invertzucker 1,34 g Rohrzucker	6,63	1,72
500 ccm	Geimpft 13. März. Beginn der Gärung 18. April (!). Versuch abgebrochen 20. Juli (keine Gärung mehr)	8,31 mg Korrektur 2.38 „ 5,93 mg	6,60 g Invertzucker 0,96 g Rohrzucker	2,77	2,14

---

wenn wir annehmen, daß dieser ganze Stickstoffgehalt in Lösung gegangen sei — die Erde selbst wurde aus der gärenden Lösung nicht mit in den Kolben überführt — so hätten wir von den erhaltenen Resultaten ca. 1,5 mg abzuziehen, oder von dem auf 1 g Dextrose berechneten Stickstoffgewinn = 0,075 mg N, eine Zahl, die natürlich nicht in Betracht kommt.

Der Versuch ist besonders deshalb interessant, weil er zeigt, wie äußerst lange unter Umständen die „Inkubationszeit“ sein kann. Beim ersten Kolben begann die Gärung nach ca. 14 Tagen, beim zweiten erst nach ca. 5 Wochen bemerkbar zu werden. Anscheinend hat der Organismus große Anstrengungen machen müssen einen Teil des Rohrzuckers in den von ihm verwertbaren Invertzucker überzuführen. Bemerkenswert ist ferner der Umstand, daß nach ca. 4 Monaten, als keine Gärung mehr zu beobachten war, immer noch ein kleiner Teil des Rohrzuckers unverändert geblieben war, der größte Teil war allerdings hydrolysiert, trotzdem aber nicht völlig verarbeitet.

Der Stickstoffgewinn ist sehr ähnlich dem in Dextroselösung erhaltenen (s. Tab. II).

Zusammenfassung.

Die Versuche über die Stickstoffbindung haben gezeigt, daß sich alle untersuchten Stämme des Bac. amylobacter, auch die unter verschiedenen Namen bisher in der Literatur als selbständige Species angesehenen Stämme, ebenso wie sie morphologisch und in ihrem sonstigen physiologischen Verhalten unter gleichen Lebensbedingungen eine relativ eng begrenzte Variationsbreite besitzen, sich auch hinsichtlich ihrer Assimilationsfähigkeit des atmosphärischen Stickstoffs durchaus innerhalb dieser Grenzen bewegen. Diese Uebereinstimmung besteht sowohl hinsichtlich des Verlustes der genannten Fähigkeit, wie hinsichtlich des Wiedergewinnes derselben.

Die Degeneration des Stickstoffbindungsvermögens erfolgt bei den verschiedenen Stämmen unter gleichen Kulturbedingungen verschieden schnell. Die Sporen des von Winogradsky isolierten Stammes, welche 3 Jahre lang in stickstofffreier Nährlösung eingeschlossen aufbewahrt waren, riefen nach einmaligem Ueberimpfen auf Kartoffel in stickstofffreier Nährlösung noch Gärung und Stickstoffbindung hervor. Daraus geht hervor, daß bei einem kräftig assimilierenden Stamme die Wirksamkeit durch ein langes Aufbewahren der Sporen unter Umständen nicht verloren geht. Von den neu isolierten Stämmen verlor Stamm 71 Indien z. B. seine Wirksamkeit bereits nach ca. $^1/_4$ Jahr vollständig, während Stamm 56 Kamerun dasselbe noch nach 3-jähriger Kultur auf D-Agar annähernd unverändert beibehalten hatte. Es ist das gleichzeitig ein Zeichen dafür, daß der Verlust der Wirksamkeit nicht ohne weiteres nur durch künstliche Kultur verursacht wird. Die Ursache des Verlustes der Wirksamkeit ist nicht bekannt; ein Verlust derselben findet stets statt, sowohl in stickstoffarmen, wie in stickstoffreichen Nährböden, ohne daß mit diesem Verluste immer eine Degeneration der Morphologie im weitesten Sinne einherzugehen braucht, beide stehen nicht immer in einem bemerkbaren Zusammenhange.

Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens ist bei allen Stämmen des Bac. amylobacter gleich leicht durchzuführen. Ich habe gezeigt, daß es gelingt, dasselbe durch „Erdpassage“ bei allen Stämmen wiederherzustellen, auch bei denjenigen, welche ihre Wirksamkeit infolge langer künstlicher Kultur verloren hatten. Auf diese Weise habe ich bei einigen Stämmen, die unter verschiedenen Namen zum Teil als spezielle Erreger irgend einer besonderen physiologischen Leistung — Granulobacter pectinovorum, Granulobacter butylicum, Bacillus saccharobutyricus, Bacillus amylobacter I Gruber — schon lange bekannt waren, ein Stickstoffbindungsvermögen feststellen können und damit außer durch die vergleichenden morphologischen und die übrigen physiologischen Untersuchungen noch stärker begründet, daß wir berechtigt sind, sie — und wahrscheinlich noch eine ganze Reihe ähnlicher — als Vertreter einer einzigsten Species, des Bac. amylobacter A. M. et Bred. anzusehen. Dieser Beweis wird dann durch die vergleichenden Untersuchungen ihres chemischen Verhaltens im nächsten Kapitel noch weiter unterstützt werden.

Als besonders günstiges Mittel zur Regeneration der Wirksamkeit hat sich die sogenannte Erdpassage erwiesen.

Vorzüglich kommt die Wirkung derselben zum Ausdruck in den Zahlen der letzten Tabelle V, zu denen man die der Reihe II (No. 4, 5, 6) der Tabelle II mitheranziehen wolle. Bei allen diesen Stämmen — 3 neu isolierten, aber bereits in ihrer Wirkung abgeschwächten und 4 in der Literatur bereits bekannten — hatte eine „Auffrischung durch Erdpassage“ stattgefunden. Der Effekt ist ein bei allen Stämmen beinahe absolut übereinstimmender, alle erlangen sie nicht allein die Wirksamkeit wieder, sie üben, immer gleiche Versuchsbedingungen vorausgesetzt, dasselbe auch alle in gleichem Maße aus: in 12 Versuchen — 3 Versuchsreihen zu verschiedenen Zeiten — wurden auf 1 g vergorene Dextrose assimiliert 2,98—2,60—2,29—2,64—2,43—2,50—2,24—2,15—2,49 2,31—2,10—2,22 mg N! also eine praktisch völlige Uebereinstimmung!

Hiermit kämen wir zum zweiten Punkte, zur Betrachtung der Variationsbreite unter verschiedenen gebotenen Kulturbedingungen, und zwar nicht allein der Variationsbreite der verschiedenen Stämme, sondern besonders auch der Variation, welche ein und derselbe Stamm unter verschiedenen und auch unter gleichen Kulturbedingungen hinsichtlich der Intensität der Stickstoffbindung zeigen kann.

Zunächst käme in Frage der

Einfluß der Kultivierungsmethode im offenen Kolben und im Stickstoffstrome.

Vergleiche hierzu Tabelle I (p. 502) und Tabelle II (p. 506).

Es wurden so folgende Zahlen erhalten (die beigefügte römische Ziffer bedeutet die entsprechende Tabelle, die arabischen Ziffern die derselben entnommene Nummer):

Stickstoffgewinn in Milligramm auf 1 g verbrauchte Dextrose.

No.	Reihe I (ohne Stickstoff)		Reihe II (mit Stickstoff) * = Pepton, ** = Asparagin	
	offener Kolben	N-Strom	offener Kolben	N-Strom
1	I_2 1,93	I_1 1,10		
2	I_6 0,66	I_5 1,31	I_8 ** 0,43	I_9 ** 0,35
3	II_4 2,98	II_1 1,81	II_{13}* 0,67	II_{10}* 0,91
4	II_5 2,60	II_2 2,06	II_{14}* 1,29	II_{11}* 0,72
5	II_6 2,29	II_8 1,87	II_{15}* 0,40	II_{12}* 0,91

oder, wenn wir das Mehr (+) oder Weniger (—) der Stickstoffzunahme der im Stickstoffstrome gehaltenen Kulturen gegenüber den im offenen Kolben gehaltenen prozentual ausdrücken wollen:

	Reihe I	Reihe II
1.	— 38 Proz.	—
2.	+ 50 „	— 12 Proz.
3.	— 33 „	+ 18 „
4.	— 12 „	— 40 „
5.	— 11 „	+ 63 „

Wir finden also in der Tat nicht unerhebliche Differenzen; ein durchgehender günstig oder nachteilig wirkender Einfluß des einen oder anderen Kulturverfahrens tritt nicht hervor.

Einfluß der Darreichung von verschiedenen N-haltigen Verbindungen auf die Größe der N-Assimilation.

Im allgemeinen wird angenommen, daß die stickstoffbindenden Bakterien bei Darreichung von gebundenem Stickstoff diesen zum Aufbau ihrer stickstoffhaltigen Körpersubstanz verwenden und ihre assimilatorische Tätigkeit nicht, oder doch in nicht nachweisbarem Grade ausüben. Diese Auffassung erscheint annehmbar; daß der Bac. amylobacter den in der Nährlösung gebotenen gebundenen Stickstoff anscheinend mit zum Aufbau seiner Körpersubstanz verwendet, ist aus den Ergebnissen der Tabelle I zu schließen, bei denen in solchen Nährlösungen, denen kleine Mengen Stickstoff in Form von Ammoniumnitrat oder Asparagin geboten waren, der Stickstoffgehalt in der Nährlösung nach beendigter Gärung tatsächlich eine Abnahme erfahren hatte. Daß der zugesetzte Stickstoff, wenigstens bei Darreichung von Ammoniumnitrat, aber nicht vollständig verbraucht wurde, zeigt der nach beendigter Gärung in den Nährlösungen mit Ammoniumnitrat noch positive Ausfall der Diphenylaminreaktion auf Nitrate; vielleicht werden andere N-Verbindungen vollständig verbraucht.

Es ist aber auch nicht ohne weiteres einzusehen, daß die stickstoffbindenden Bakterien bei Anwesenheit genügender Stickstoffverbindungen die ihnen spezifische Eigenschaft der Stickstoffassimilation nicht ausüben, sich derselben also nur gleichsam als Notbehelf bedienen sollten, sie würden dann auch wahrscheinlich im Boden, wo ihnen eine genügende Menge von Stickstoff zur Verfügung steht, sich von diesem ernähren und die Stickstoffassimilation unterlassen, und doch lehrt die Erfahrung, daß sie gerade im Boden ihre stickstoffbindende Tätigkeit reichlich entfalten.

Die diesbezüglichen Angaben über Bac. amylobacter, welche wir in der Literatur finden, beschränken sich meines Wissens lediglich auf die Versuche, die Winogradsky (1895) angestellt hat; da zu diesen Rohkulturen benutzt wurden, kommen sie allerdings nicht in Betracht, ich möchte sie aber doch hier erwähnen, da sie als Grundlagen für die Anschauung gedient haben. Es sind deshalb einige der von Winogradsky in Tabelle III mitgeteilten Zahlen nachfolgend zusammengestellt und die Stickstoffgewinne auf 1 g Dextrose berechnet.

(Siehe Tabelle p. 517.)

Aus diesen Zahlen Schlüsse für unsere Frage zu ziehen, ist natürlich nicht möglich, da es ja auf die Natur der den Bac. amylobacter begleitenden Bakterien ankommt, wie sich diese gegenüber den zugesetzten Stickstoffverbindungen verhalten.

Bei Betrachtung unserer Ergebnisse über den Einfluß der Darreichung von Pepton, Ammoniumnitrat und Asparagin auf die Größe der Stick-

No.	Dargereichte Dextrose g	Zugesetzter N (N als Ammonsulfat) mg	Zuckerrest nach Vergärung	Totaler Gewinn an N mg	Auf 1 g verbrauchter Dextrose sind assimiliert mg
1	2,0	0	0	5,86	2,93
2	2,0	0	0	3,93	1,97
3	2,0	0	0	4,96	2,48
4	3,0	2,1	0	6,98	2,33
5	3,0	4,2	0	4,98	1,66
6	3,0	6,4	0	5,57	1,86
7	3,0	8,5	0	3,67	1,22
8	3,0	17,0	0	0,34	0,11
9	3,0	21,2	0	— 2,18 1)	—
10	1,0	10,6	0	0	0,00
11	2,0	10,6	0	0,8	0,40
12	3,0	10,6	0	3,7	1,23
13	4,0	10,6	0	4,1	1,03

stoffzunahme tritt uns ein ungemein widerspruchsvolles Resultat entgegen. Einmal ist eine große Herabminderung des auf 1 g vergorenen Zuckers fixierten Stickstoffs zu konstatieren, so in Tabelle IV, No. 3, 4, 7, 8 und 9, ferner in Tabelle II, No. 10—16, wo durch Zusatz von 17 mg Stickstoff zu 1 Liter Nährlösung in Form von Pepton, Ammoniumnitrat oder Asparagin der Stickstoffgewinn auf 1 g vergorene Dextrose nur $^1/_2$—$^1/_6$ derjenigen Menge beträgt, die in stickstofffreier Nährlösung gebunden wurde. In anderen Fällen tritt ein Unterschied bezüglich der auf 1 g vergorene Dextrose gewonnenen Stickstoffmengen in Nährlösung ohne und mit Ammoniumnitrat nicht hervor, z. B.:

Tabelle II Kolben 4 (ohne N) = 2,98
„ II „ 5 (ohne N) = 2,60
„ III „ 2 (ohne N) = 1,30
„ III „ 16 (+ 3,5 mg N als Ammonnitrat) = 2,37
„ III „ 17 (+ 3,5 mg N als Ammonnitrat) = 2,19
„ IV „ 1 (+ 3,5 mg N als Ammonnitrat) = 1,49

während wieder in anderen Fällen anscheinend eine große Steigerung der auf 1 g vergorene Dextrose assimilierten Stickstoffmengen durch Peptonzusatz erreicht ist, siehe Tabelle IV, No. 7, 8, 9 gegen Tabelle III, No. 4.

Eine Erklärung dieser Tatsachen will ich nicht versuchen, da für die klare Auffassung der Verhältnisse Beobachtungen über die Intensität der Vermehrung der Oidien in den Nährsubstraten fehlen. Keinesfalls ist aus diesen Versuchen zu schließen, daß ein Zusatz von Pepton oder Ammoniumnitrat eine Verminderung der stickstoffbindenden Kraft des Bac. amylobacter bedingt.

Ich hoffe durch weitere Untersuchungen an einer genügenden Anzahl von Parallelreihen, nicht nur verschiedener, sondern auch ein und desselben Stammes, später über diese Fragen Auskunft geben zu können, denn das ist selbstverständlich wichtig, daß auch die individuelle Variation eines Stammes an sich die genügende Berücksichtigung findet.

---

1) Nach der Gärung Entwickelung von Pilzen.

Während ich so die Frage über den Einfluß kleinerer bis größerer Initialgaben von assimilierbaren Stickstoffverbindungen — Pepton, Asparagin, Ammoniumnitrat — auf die Intensität der Stickstoffassimilation einstweilen offen lassen muß, scheint es so, als trete zwischen diesen stickstoffhaltigen Nährstoffen und den nach Vollendung der Gärung übrig bleibenden Zuckermengen ein gewisser Zusammenhang hervor.

Vergoren % der dargereichten Dextrose:

ohne N		mit N 15 mg N als Pepton im Liter		mit N 3,5 mg als Ammonsulfat im Liter	
II_1	48 Proz.	II_{10}	69 Proz.		—
II_2	54 „	II_{11}	57 „		—
II_3	46 „	II_{12}	52 „		—
II_4	43 „	II_{13}	100 „	II_{16}	100 Proz.
II_5	100 „	II_{14}	100 „	II_{17}	90 „
II_6	69 „	II_{15}	100 „		—
III_2	100 „	IV_3	100 „	IV_1	100 „

Es scheint so, als ob der Zucker in denjenigen Kolben, denen kleine Mengen Pepton oder Ammonnitrat zugesetzt wurde, im allgemeinen weitgehender zersetzt wird, als in den stickstofffreien[1]).

Weshalb es in so vielen Fällen überhaupt nicht zu einer völligen Vergärung des Zuckers gekommen ist, ist schwer zu sagen. In einigen Fällen, z. B. dann, wenn keine Kreide zugesetzt wurde (Tabelle II, Kolben 7, 8, 9) läßt sich die Erscheinung dadurch erklären, daß das Leben infolge zu starker Säuerung der Nährlösung zum Abschluß kam, bevor die ganze dargebotene Zuckermenge vergoren werden konnte. In allen anderen Fällen ist jedoch ein sichtbarer Grund für diese nur teilweise stattfindende Vergärung nicht vorhanden, durch Kreidezusatz wurde die gebildete Säure schnell wieder abgestumpft, so daß dieser nicht die Schuld zuzuschreiben ist. Auch die Kulturbedingungen sind während der ganzen Versuchsdauer dieselben geblieben, und das Aufhören einer weiteren Gärung durch eine etwaige Anhäufung von Stoffwechselprodukten zu erklären, wird auch nicht gut möglich sein, denn bisweilen kam unter denselben Bedingungen in derselben Versuchsreihe eine Gärung völlig zum Abschluß, bisweilen auch nicht. Ebenso schwer ist es für die beobachtete Erscheinung, daß eine völlig zum Stillstand gekommene Gärung plötzlich wieder kräftig einsetzte, eine einwandsfreie Erklärung zu finden [Nachkeimung?, nachträgliche Vergärung etwa gebildeter Milchsäure?[2])].

---

1) Ternetz (1907) fand, daß bei den untersuchten Phoma-Arten ein Zusatz von kleineren Stickstoffmengen in Form von Rhododendronblätterdekokt — in dem außer N allerdings wohl noch manches andere darin ist — die Stickstoffassimilation wesentlich herabdrückte, während durch denselben der Zuckerverbrauch gesteigert wurde.

2) Nachschrift: Vor kurzem veröffentlichte H. Pringsheim (1908) eine Mitteilung, in der er sich mit der oben erwähnten Erscheinung, daß bisweilen in einigen Kulturen die Gärung vor völligem Verbrauch des dargebotenen Zuckers zum Stillstand kommt, beschäftigt. Wenn er in das Innere der Kolben dann einen Luftstrom einleitete, fing nach ein paar Tagen die Gärung von neuem wieder an, um dann nach einiger Zeit wieder auszusetzen, bis von neuem Luft zugeführt wurde. Da dieselbe Erscheinung auch in einem Kolben, dem Ammonsulfat zugesetzt war, beobachtet wurde, glaubt er schließen zu dürfen, daß es der Mangel an Sauerstoff gewesen sei, der die Zuckervergärung zum Stillstand gebracht hatte, „er fehlte zur Verbrennung des Energiematerials". Dem widerspricht die Erfahrung, daß der Bac. amylobacter sehr wohl auch ohne diese Sauerstoffzufuhr den Zucker völlig vergärt, wie meine obigen Versuche zeigen, bei denen es unter ganz ähnlichen äußeren Verhältnissen in denselben Reihen bald zur völligen und bald ohne ersichtlichen Grund nur zur teilweisen Vergärung des

Absolute und relative Stickstoffgewinne bezogen auf Zucker.

Es ist ganz sicher, daß die Menge des assimilierten Stickstoffs im direkten Verhältnis steht zur Menge des dargereichten Zuckers bis zu einer Maximalgrenze, die bei meinen Versuchen zwischen 2 und 4 Proz. zu liegen scheint. Je mehr Zucker prozentualiter gereicht wird, desto größer ist der absolute Stickstoffgewinn, dagegen scheint es, als ob die Menge des assimilierten Stickstoffs im umgekehrten Verhältnis zur Menge des bis zum Aufhören der Gärung verbrauchten Zuckers stände: je mehr Zucker vergoren wird, desto kleiner ist der relative Stickstoffgewinn auf 1 g des vergorenen Zuckers berechnet.

Daß der absolute Stickstoffgewinn mit der Konzentration des Zuckers steigt — immer bis zu einer gewissen Maximalgrenze — ist für verschiedene stickstoffsammelnde Organismen bekannt [Azotobacter (Gerlach und Vogel 1902, Krzemieniewski 1908), Pilze (Puriewitsch 1895, Ternetz 1907) und auch Bac. amylobacter (Winogradsky 1895, Pringsheim 1906/08)].

Pringsheim fand z. B. bei seinem „Clostridium americanum“:

500 ccm Nährlösung	Absoluter N-Gewinn
+ 0,5 Proz. Rohrzucker	10,4 mg
1,0 „ „	8,3 „
2,0 „ „	28,6 „
4,0 „ „	35,9 „

Ich fand (siehe Tabelle III):

800 ccm Nährlösung	Absoluter N-Gewinn
+ 1,0 Proz. Dextrose	12,06 mg
2,0 „ „	20,87 „
4,0 „ „	25,72 „

Diese Resultate sind ja auch ohne weiteres zu erwarten.

Was den relativen Stickstoffgewinn anbelangt, so finden wir einstimmig die Ansicht vertreten, daß „die Ausnutzung des Energiematerials für den genannten Zweck bei geringerer Konzentration eine bessere ist, als bei höherer“ (Pringsheim), daß also „das relative Maximum der Stickstoffbindung mit dem niedrigsten Dextrosegehalt zusammenfällt, je weniger Zucker dem Pilz geboten wird, um so haushälterischer geht er damit um“ [Ternetz[1])]. Das geht sehr gut aus einer Zusammenstellung hervor, die Pringsheim über die Ausnutzung von Energiequellen in verschiedenen Konzentrationen gibt (mg N-Gewinn auf 1 g vergorenen Materials).

Zuckers kam. Meine Versuche haben ferner gezeigt, daß die Species bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff zu gedeihen vermag, und daß ihr Maximum der Sauerstoffspannung bei ca. 25 mg O im Liter lag. Endlich sei noch an die Beobachtungen erinnert, die ich öfter machte, daß eine völlig zum Stillstand geratene Gärung plötzlich von selbst wieder kräftig einsetzt, ohne Sauerstoffeinleitung.

[1] Nachschrift: Daß „mit der Zunahme der Konzentration der Nährlösung ihr Verbrauch im Verhältnis zur Stickstoffbindung immer weniger ökonomisch wird, beobachtete auch Krzemieniewski (1908) an Azotobacter; so fand er, daß auf einen Verbrauch von 1 g Dextrose

0,5 g Dextrose	9,92 mg Stickstoffzuwachs
1,0 „ „	7,53 „ „
2,0 „ „	6,45 „ „

kamen.

Proz.	Dextrose	Rohrzucker	Stärke	Milchzucker	Mannit
0,25	3,70	—	—	—	—
0,50	3,20	4,20	—	—	—
1,00	2,85	1,40	2,30	3,70	3,20
2,00	2,00	2,80	1,70	3,10	1,70
4,00	1,20	1,80	—	—	—

Genau dieselben Verhältnisse lassen die Zahlen der Tabelle III ersehen:

Stamm A (Clostr. Pasteur.)	1 Proz. Dextrose	1,2 mg
do.	2 „ „	1,3 „
do.	4 „ „	0,8 „
Stamm 83	1 „ „	2,8 „
do.	4 „ „	0,7 „

Noch eine andere Beobachtung können wir machen, nämlich die, daß der relative Maximalgewinn nicht nur mit dem niedrigsten Prozentgehalt an Zucker zusammenfällt, er fällt auch mit dem niedrigsten Zuckerverbrauch während der Gärungsperiode einer Kultur zusammen, wie folgende Beispiele zeigen:

	Siehe Tabelle II No.	Dargebotene Dextrosemenge in 2-proz. Lösung	Davon verbraucht	Proz. der Gesamtmenge	Absoluter N-Gewinn mg	Relativer N-Gewinn mg
Stamm 78	4	16	6,9	43	20,6	2,98
	7	10	2,1	21	11,9	5,61
Stamm 84	5	14	14,0	100	36,4	2,60
	8	10	2,0	20	13,0	6,67
Stamm 119	6	16	11,1	69	25,3	2,29
	9	10	1,9	19	10,1	6,51

Diese drei unter denselben Kulturbedingungen — gleiche Zuckerkonzentration und gleiche Temperatur — gehaltenen Versuchsreihen geben übereinstimmende Werte und beleuchten das Verhältnis von vergorenem Zucker zum relativen Stickstoffgewinn in sehr schöner Weise.

Beziehungen von verbrauchter Zuckermenge zur gebundenen Stickstoffmenge.

Es fragt sich überhaupt, inwieweit Zuckerverbrauch und Stickstoffassimilation in Beziehung gebracht werden können, und ob es gestattet ist, von einer „besseren oder schlechteren Ausnutzung des Energiematerials zum Zwecke der Stickstoffbindung“ zu sprechen. Daß die Energiequelle zur Assimilation des Stickstoffs die Kohlenhydrate sind, ist klar, aber anderseits ist es nicht als wahrscheinlich anzusehen, daß eine derartig quantitativ ausgiebige Spaltung der Kohlenhydrate nötig ist, um die für den Lebensprozeß einschließlich der Stickstoffbindung nötige kinetische Energie zu schaffen. Man darf vom biologischen Standpunkte aus wohl annehmen, daß die reichliche Säurebildung zu Schutzzwecken stattfindet, ebenso wie bei der Hefe die Alkoholbildung. Daß in der Tat durch die Säurebildung andere Organismen ferngehalten werden können, läßt sich leicht zeigen: impft man eine etwas Pepton enthaltende Winogradskysche Nährlösung mit Erde, so bemerkt man nach ca. 12 Stunden kleine Mycelflocken in der Nährlösung schwimmen. Diese kommen aber nicht zur Entwickelung, denn wenn nach ca. 48 Stunden die Buttersäuregärung einsetzt, werden sie unterdrückt, und erst nachdem mit der Vergärung der Dextrose die Säurebildung aufgehört hat, wuchern sie heran, jetzt die gebildeten fettsauren Salze als Kohlenstoffquelle benutzend.

Meine Versuche zeigen deutlich, daß ein kräftiger Verlauf der Gärung nicht etwa auch ein Ausdruck der kräftigen Betätigung der Stickstoffbindung ist und umgekehrt. Man sehe sich z. B. die 3 Kolben ohne Kreide, No. 7, 8, 9 der Tabelle II an: Von 10 g gereichter Dextrose sind ca. 2 g vergoren und dabei ca. 12 mg N assimiliert worden. In den Kolben 4, 5, 6 mit Kreide sind von 16 g gereichter Dextrose ca. 12 g vergoren und dabei ca. 28 mg N gebunden, das macht im ersteren Falle pro Gramm zersetzten Zuckers eine Zunahme von 6 mg, im letzteren von 2,4 mg (vergl. hierzu auch die Zusammenstellung auf p. 520). Wir können uns das biologisch vielleicht so erklären, daß, wenn Kreide zugesetzt wird, die Schutzstoffbildung fortgesetzt werden muß, daß also deshalb eine viel größere Menge Kohlenhydrate zum Zwecke der Schutzstoffbildung verbraucht wird, als dann, wenn die Säuren durch Kreide nicht wieder abgestumpft werden. In nachstehender Tabelle VII p. 522 habe ich einen Ueberblick über das Verhältnis von Stickstoffassimilation und Säurebildung, wie es sich bei meinen Versuchen herausstellte, gegeben. Die flüchtige Säure wurde in der früher (p. 498) beschriebenen Weise durch Destillation im Dampfstrome abgetrieben und in Form von Bariumsalzen (s. nächstes Kapitel V, „Chemisches“) quantitativ zur Wägung gebracht. Die Umrechnung der Bariumsalze auf freie Säure fand in nachstehender Tabelle einfach in der Weise statt, daß man den Ba-Gehalt mit 50 Proz. annahm[1]).

(Siehe Tabelle VII p. 522.)

Die Tabelle zeigt, daß zwischen der Größe des Stickstoffgewinnes und der Menge der gebildeten flüchtigen Säuren absolut kein Zusammenhang besteht, wie am besten aus der Spalte 12, in der die Verhältnisse von Stickstoffgewinn zu Säurebildung, und in der Spalte 11, in der die Quotienten aus Stickstoffbindung und vergaster Dextrosemenge zusammengestellt sind, hervorgeht. Die mitgeteilten Daten werden zur Genüge dartun, daß es nicht möglich ist, aus den Verhältnissen von Säurebildung und Stickstoffbindung irgendwelche Rückschlüsse zu ziehen, geschweige denn Vergleiche zwischen zwei verschiedenen Species aufstellen zu wollen, wie das kürzlich Pringsheim tat, welcher durch die Analyse eines einzigen Versuches beweisen will, daß sein „Clostridium americanum“ immer (denn daß das immer geschähe, muß er annehmen, wenn er meint, diese Eigenschaft als Speciesdiagnostikum benutzen zu können) „eine größere Menge des gebotenen Zuckers vergast, als das Clostridium Pasteurianum zu tun imstande (!) ist“. Meine Zusammenstellung, welche übrigens zeigt, daß das „Clostridium Pasteurianum“ unter Umständen den Zucker bis 91 Proz. (No. 5) „vergasen“ kann, beweist klar, daß man diese biologischen Verhältnisse

---

[1]) Er schwankte (s. später im Kapitel V) zwischen 44,5 und 49,0 Proz. Die freie Säure hätte demnach auch nach dem jeweiligen Bariumgehalt genau berechnet werden können, die Zahlen wären dadurch aber um nichts genauer geworden, denn es kommt im Grunde nicht darauf an, wieviel Gramm Säure gebildet sind, sondern wieviel Grammoleküle, und diese ließen sich nur bei genauer Kenntnis der Zusammensetzung des flüchtigen Säuregemisches berechnen, so daß obige Zahlen allerdings nur annähernde Werte sind, zum gedachten Zweck jedoch vollkommen verwertbar.

Tabelle VII.

1	2		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				Dextrose			N-Zunahme		Flüchtige Säure			
No.	Aus Tab.	Aus No.	Impfung	Gesamtgabe g	Davon verbraucht g	Proz. der Gesamtgabe	Gesamt mg	Auf 1 g verbrauchte Dextrose mg	Gesamt g	Auf 1 g verbrauchte Dextrose g	Quotient aus N-Bindung und vergastem Energiematerial	Verhältnis von gebundenem N zu gebildeter Säure wie
1	III	1	Stamm A „Clostr. Pasteurianum“	8	8	100	12,1	1,21	2,7	0,33	18	1 : 270
2	III	2		16	16	100	20,9	1,30	5,8	0,36	20	1 : 270
3	III	3		32	32	100	25,7	0,80	12,2	0,38	13	1 : 470
4	IV	1		20	20	100	29,7	1,49	2,0	0,10	17	1 : 70
5	IV	2		10	10	100	20,7	2,07	0,9	0,09	23	1 : 45
6	IV	3		10	10	100	18,4	1,84	3,7	0,37	30	1 : 200
7	IV	4		10	10	100	17,0	1,70	3,6	0,36	27	1 : 200
8	III	4	Stamm 83	8	8	100	22,8	2,84	2,5	0,32	41	1 : 110
9	III	6		32	11,2	35	7,8	0,70	4,5	0,40	12	1 : 60
10	IV	6		20	12,2	61	17,2	1,41	3,1	0,26	20	1 : 180
11	IV	7		10	3,8	38	22,7	6,02	0,7	0,18	74	1 : 30
12	IV	8		10	4,5	45	14,6	3,24	0,9	0.20	41	1 : 60
13	IV	9		10	4,0	40	16,9	4,22	1,1	0,28	59	1 : 65
14	IV	10		10	3,9	39	10,7	2,75	1,3	0,36	43	1 : 130
15	I	1	Stamm 56	16	16	100	17,6	1,10	5,6	0,35	17	1 : 330
16	I	2		10	10	100	19,3	1,93	3,6	0,36	30	1 : 180
17	I	3		16	16	100	9,9	0,62	5,8	0,37	0,9	1 : 560
18	I	4		16	16	100	11,9	0,75	5,7	0,36	1,2	1 : 470
19	I	5	Stamm 17	16	9,8	61	12,9	1,31	2,1	0,21	17	1 : 160
20	I	6		10	10	100	6,6	0,66	2,6	0,26	0,9	1 : 390
21	I	7		10	10	100	4,7	0,47	2,1	0,21	0,6	1 : 450
22	I	8		10	10	100	4,3	0,43	2,5	0,25	0,6	1 : 550
23	I	9		10	10	100	5,6	0,35	4,0	0,25	0,5	1 : 700

nicht in der Weise, wie es **Pringsheim** tun will, zur Speciesdiagnose benutzen kann.

Es finden sich andauernd in der Literatur Angaben, daß dieser und jener Organismus einem anderen an stickstoffbindender Kraft überlegen sei. So rangiert **Ternetz** die N-sammelnden Organismen in Reih und Glied: Nach dem Verhältnis des assimilierten Stickstoffs zur verarbeiteten Dextrose marschieren an der Spitze ihre **Phoma**-Arten, dann folgt **Azotobacter**, während **Clostridium Pasteurianum** am Ende der Reihe steht noch hinter den Schimmelpilzen in folgender Weise:

(Siehe Tabelle p. 523.)

Diese Anordnung kann man ja machen, sie hat aber wenig Bedeutung, da wir sehen, wie verschieden stark selbst unter gleichen Verhältnissen die Stickstoffgewinne auf 1 g Dextrose beim **Bac. amylobacter** ausfallen, daß sich andere Organismen ebenso verhalten, ist ja bekannt, die in Parallelreihen erhaltenen Resultate variieren oft bis 50 Proz. und mehr. Ferner sind die genannten Pilze mit dem **Bac. amylobacter** gar nicht vergleichbar, weil bei letzterem immer zwei Prozesse verlaufen, einmal der der Schutzstoffbildung (Buttersäure-

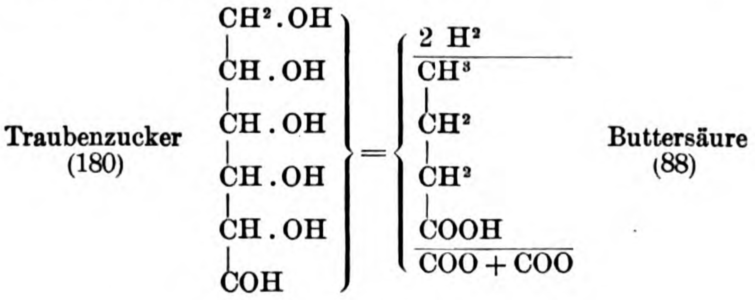
Chemische Fabrik Dr. H. Noerdlinger Flörsheim a. M.

Name des assimilierenden Organismus	1 Dauer des Versuches Tage	2 Gebotene Dextrose g	3 Proz.	4 Verarbeitete Dextrose g	5 N-Gewinn mg	6 Assimiliert pro 1 g verarbeitete Dextrose mg
Clostridium Pasteurian.[1]	20	40	4	40	53,6	1,34
„ Pasteurian.[1]	20	20	2	20	24,4	1,22
„ american.[2]	30	1,25	0,25	1,25	4,6	3,70[6]
„ american.[2]	30	5	1	3,01	8,2	3,01
Azotobacter chroococcum[3]	35	5	0,5	5	42,7	8,56
„ chroococcum[3]	35	12	1,2	12	127,9	10,66
Aspergillus niger[4]	28	7	7	1,1	1,9	1,71
Penicillium glauc.[4]	28	7	7	0,7	2,8	3,80
Phoma rad. Oxyc.[5]	28	7	7	0,85	15,3	18,08
„ „ Andr.[5]	28	7	7	0,67	7,3	10,92
„ „ Vaccin[5]	28	7	7	0,71	15,7	22,14
„ „ Tetr.[5]	28	7	7	1,0	4,0	3,99
„ „ Ericae[5]	28	7	7	1,1	2,3	2,17

gärung), durch den große Mengen Dextrose verbraucht werden, die für die Stickstoffassimilation nicht mehr in Betracht kommen können, und dann der der Stickstoffassimilation selbst.

Beziehungen zwischen Zuckerverbrauch, Säurebildung und Stickstoffbindung.

Wenn wir die Zuckermenge berechnen würden, die nicht zur Säurebildung verbraucht wird und die relativen Stickstoffgewinne dann auf diese übrig bleibende Dextrosemenge beziehen, so würden sich die relativen Verhältniszahlen natürlich viel höher stellen und dem auf 1 g verbrauchte Dextrose berechneten Stickstoffgewinne der Pilze annähernd gleichkommen. Nehmen wir an, daß bei der Gärung vom Bac. amylobacter nur Buttersäure gebildet würde, so sind zur Bildung von 1 g Buttersäure ca. 2 g Dextrose nötig, nach der Formel[7]):



$$\text{Traubenzucker (180)}\quad \left.\begin{array}{l} CH^2.OH \\ | \\ CH.OH \\ | \\ CH.OH \\ | \\ CH.OH \\ | \\ CH.OH \\ | \\ COH \end{array}\right\} = \left\{\begin{array}{l} \underline{2\ H^2} \\ CH^3 \\ | \\ CH^2 \\ | \\ CH^2 \\ | \\ \underline{COOH} \\ COO + COO \end{array}\right. \quad \text{Buttersäure (88)}$$

---

1) Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 53/54.

2) Pringsheim, ebenda. Bd. XVI. 1906. p. 795.

3) Gerlach und Vogel, ebenda. Bd. IX. 1902. p. 818.

4) Ternetz, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIV. 1907. Tab. VII.

5) Ternetz, ebenda. Tab. VIII. (Alles nach Ternetz.)

6) Es ist übrigens ein Irrtum von Ternetz, daß Clostr. americanum „aërob“ wächst. Dieser Stamm gärt nur, ebenso wie alle anderen Stämme des Bac. amylobacter im offenen Kolben. Sein Maximum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung liegt bei 20—30 mg Sauerstoff.

7) Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß die Zersetzung der Dextrose nicht annähernd im Sinne dieser Gleichung verläuft, da ja noch eine ganze Reihe anderer Säuren von niedrigerem Molekulargewicht gleichzeitig entstehen.

Wenn wir nun die zur Buttersäurebildung verbrauchte Dextrose in Berücksichtigung ziehen und nur die völlig „vergaste" als Energiequelle zur Stickstoffbindung betrachten, so würden sich, wie folgende Tabelle VIII zeigt, die auf 1 g vergaste Dextrose berechneten relativen Stickstoffgewinne folgendermaßen stellen.

Tabelle VIII.

1	2		3	4	5	6	7	8	9	10	11
No.	Aus		Impfung	Verarbeitete Menge Dextrose	Gesamtsumme der flüchtigen Säuren	Dazu wären nötig an Dextrose	Also noch übrige Menge Dextrose	Gesamt-N-Zunahme	Also auf 1 g der nicht zur Säurebildung gebrauchten Dextrose sind assimiliert	Zur Eiweißbildung aus dem assimiliert. N nötige Menge Dextrose Minimum	Also Dextroserest
	Tab.	No.		g	g	g	g	mg	mg	mg	mg
1	III	1	Stamm	8	2,7	5,4	2,6	12,1	4,7	57,5	2542
2	„	2	A	16	5,8	11,6	4,4	20,9	4,8	99,3	4301
3	„	3		32	12,2	24,4	7,6	25,7	3,4	119,3	7481
4	„	4	Stamm	8	2,5	5,0	3,0	22,8	7,6	108,3	2892
5	„	6	83	11,2	4,5	9,0	2,2	7,8	3,5	37,1	2163
6	I	1	Stamm	16	5,6	11,2	4,8	17,6	3,7	83,6	4716
7	„	2	56	10	3,6	7,2	2,8	19,3	7,0	91,7	2708
8	„	6	Stamm	10	2,6	5,2	4,8	6,6	1,4	31,4	4769
9	„	5	17	9,8	2,1	4,2	5,6	12,5	2,3	59,4	5541
10	IV	1	Stamm	20	2,0	4,0	16,0	29,7	1,9		
11	„	2	A	10	0,9	1,8	8,2	20,7	2,5		
12	„	3		10	3,7	7,4	2,6	18,4	7,1		
13	„	4		10	3,6	7,2	2,8	17,0	6,1		
14	„	6	Stamm	12,2	3,1	6,2	6,0	17,2	2,9		
15	„	7	83	3,8	0,8	1,6	2,2	22,7	10,3		
16	„	8		4,5	1,0	2,0	2,5	14,6	5,9		
17	„	9		4,0	1,3	2,6	1,4	16,9	12,1		
18	„	10		3,9	1,5	3,0	0,9	10,7	11,9		
19	I	3	Stamm	16	5,8	11,6	4,4	9,9	2,3		
20	„	4	56	16	5,7	11,4	4,6	11,9	2,6		

Aus dieser Tabelle ergibt sich noch eine weitere Erwägung. Betrachten wir die stickstofffreien Versuche[1]: Es hat sich bei ihnen also gezeigt, daß auf 1 g der nach der Säurebildung noch disponiblen Dextrose recht verschiedene Mengen von Stickstoff gebunden wurden, nämlich zwischen 1,4 und 7,6 mg; wenn man nun die Annahme macht, daß diese Stickstoffmenge der Hauptsache nach in Form von Eiweißkörpern vorhanden sei und sich vorstellt, daß die Eiweißbildung aus Dextrose und Stickstoff nach dem Verhältnis vor sich ginge

$$\overbrace{40{,}0\,\mathrm{C} + 6{,}6\,\mathrm{H} + 53{,}3\,\mathrm{O}}^{100\ \text{Dextrose}} + \overbrace{100\ \mathrm{N}}^{100\ \mathrm{N}} = \overbrace{52{,}5\,\mathrm{C} + 6{,}9\,\mathrm{H} + 22{,}5\,\mathrm{O} + 16{,}0\,\mathrm{N}}^{100\ \text{Eiweiß}}$$

---

[1] Wir dürfen hier natürlich nur die biologisch einfacher liegenden stickstofffreien Versuche in Betracht ziehen, da die mit Pepton etc. versetzten Versuche für diese Frage zu kompliziert sind.

so würden, wie die Spalte 11 zeigt, sehr verschiedene Mengen von Dextrose übrig bleiben, die nicht direkt zur Eiweißbildung benutzt worden wären. Es müssen derartige Verschiedenheiten ja schon auftreten, wenn die Bildung der Sporen und Oidien in den Kulturen verschiedenartig verläuft, denn es ist anzunehmen, daß bei der Oidienbildung viel größere Mengen von Kohlenhydraten für die Bildung der Membranen verbraucht werden, trotz diesem aber sind die Verschiedenheiten so groß, daß sie nicht nur auf diesen Umstand zurückgeführt werden können. Es verlaufen da in den Kulturen unzweifelhaft sehr komplizierte biologische Prozesse, deren Verfolgung nicht einfach ist.

Von Krainsky (1908) sind kürzlich sehr interessante Untersuchungen über die Beziehungen der Atmungsenergie des Azotobacter chroococcum zur Assimilation des elementaren Stickstoffs angestellt worden. Es stellte sich beim Vergleichen der Kurve der Stickstoffaufnahme mit der Atmungskurve[1]) heraus, daß das Verhältnis zwischen der Atmungsenergie und der Energie der Stickstoffaufnahme in verschiedenen Perioden ungleich ist. Im Laufe der ersten Woche, wenn der Organismus sich zu vermehren begann und im ganzen nur 50 mg CO^2 ausgeschieden hatte, nahm er schon durchschnittlich ungefähr 0,4 mg N auf. Während dann mit der zunehmenden Vermehrung der Organismen die Menge des ausgeschiedenen CO^2 von Woche zu Woche immer größer wurde, blieb die Menge des aufgenommenen Stickstoffs durchschnittlich gleich (pro Woche 0,5 mg), wie nachstehende Zusammenstellung zeigt:

Tage	Menge des durch Azotobacter ausgeatmeten CO^2 in mg bei 30°	Menge des assimilierten Stickstoffs bei 30° (Mittel aus 6 Bestimmungen) mg
3	120	—
6	289	0,43
9	311	—
15	1404	1,40
18	2644	—
21	4193	1,64
24	4323	—
27	3992	2,53
30	3219	—
36	1182	3,05
39	362	—
42	246	3,58
45	214	—
49	—	3,40

Es ist sehr wohl möglich, daß ähnliche Verhältnisse beim Bac. amylobacter auch vorkommen, welche, da die durch Bac. amylobacter ausgeübte intramolekulare Atmung zu viel energischerer Spaltung des Zucker führt, auch entsprechend weitgehendere Unterschiede im Verhältnis Zuckerverbrauch zu Stickstoffgewinn hervortreten lassen werden.

Diese und andere Fragen bedürfen noch sehr genauer Untersuchungen, zu denen ich noch einige Beiträge hoffe liefern zu können.

---

1) Vergl. auch die Untersuchungen Stoklasas (1906) über den Atmungsprozeß des Azotobacter. Krzemieniewski (1907) hält es jedoch für zweifelhaft, ob Stoklasa mit Reinkulturen arbeitete. Trotzdem neuerdings Stoklasa (1908) die Reinheit seiner Kultur nochmals betont, bleibt Krzemieniewski (1908) bei seiner gegenteiligen Vermutung.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kapitel V.

Chemische Untersuchung über die von Bac. amylobacter A. M. et Bred. gebildeten Gärungsprodukte (Alkohole und flüchtige Säuren).

Auch die Verschiedenheit der Gärungsprodukte, welche durch die verschiedenen von den verschiedenen Autoren untersuchten jetzt in eine Species, den Bac. amylobacter A. M. et Bred., zusammengezogenen Stämmen gebildet wurden, war mit ein wesentlicher Grund zur Aufstellung immer neuer Species. Dabei blieben meist zwei wichtige Punkte unberücksichtigt, zuerst wurden die Kulturbedingungen, unter denen der andere Autor gearbeitet hatte, nicht immer innegehalten, was zum Teil auch mangels geeigneter Angaben nicht möglich war, und ferner wurde wohl nicht genügend berücksichtigt, daß der bei der Gärung sich abspielende Prozeß ein stark der fluktuierenden Variation unterworfener Vorgang ist.

Ich habe mich nun bemüht, an einer größeren Reihe von Versuchen einerseits verschiedene Stämme auch nach dieser Richtung hin zu vergleichen und andererseits auch die Verschiedenheiten festzustellen, die ein und derselbe Stamm unter gleichen wie verschiedenen Kulturbedingungen zu zeigen imstande ist. Nur nach dieser vergleichenden Richtung hin sind die chemischen Untersuchungen ausgeführt, dieselben sollen keinen Anspruch darauf machen, eine eingehende Analyse der gebildeten Gärungsprodukte liefern zu wollen, sondern es sollen durch dieselben, ebenso wie durch die meisten meiner vorhergehenden Untersuchungen über die verschiedenen Stämme des Bac. amylobacter nur die Verschiedenheiten, welche die verschiedenen Stämme untereinander und auch ein und derselbe Stamm an sich aufweisen kann, demonstriert werden, da die Kenntnis der Variationsbreite der wesentlichste Punkt ist, der für eine Speciesbeschreibung und Specieskenntnis von größter Bedeutung ist.

Die Methode der Isolierung der gebildeten Gärungsprodukte — Alkohole und flüchtige Säuren — ist bereits im Kap. IV unter Methodisches p. 114 beschrieben worden. Das Destillat I enthielt die Alkohole, Destillat II enthielt die flüchtigen Säuren. Die Menge der gebildeten Alkohole ließ sich annähernd beurteilen durch den Geruch der vergorenen Flüssigkeit und dann auch durch die bei der Destillation im Kühler auftretenden öligen Tropfen. In den meisten Fällen wurden diese garnicht bemerkt, dann wurde das Destillat mittels der Liebenschen Jodoformreaktion nur qualitativ geprüft: ich machte mit Kalilauge stark alkalisch, erwärmte auf ca. 50° und setzte genügende Mengen verdünnter Jodlösung zu. Meist trat sofort eine mehr oder weniger kräftige Jodoformausscheidung ein, nach der Stärke derselben findet sich in den Tabellen die Bezeichnung sehr stark, stark etc.; schwach bedeutet, wenn sich erst nach ca. 1-stündigem Stehen eine geringe Jodoformausscheidung zeigte, war eine solche nach 2 Stunden noch nicht eingetreten, so findet sich die Bezeichnung: keine Jodoformreaktion. Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß durch die Jodoformreaktion auch andere flüchtige Verbindungen, wie Aldehyde etc., angezeigt werden, und spreche aus diesem Grunde auch nur von Jodoformreaktion. War diese stark, so wurde versucht, die Alkohole durch Aussalzen mit Pottasche abzuscheiden. Nur in einigen Nährlösungen jedoch wurden solche Mengen gebildet, daß sich zur weiteren Untersuchung genügende Quantitäten abheben ließen. Im

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

allgemeinen wurden nur einige Tropfen einer stark nach Amylalkohol riechenden Flüssigkeit erhalten, deren Menge zu irgend einer Untersuchung zu klein war und die deshalb verworfen wurde. Waren genügende Mengen Alkohole vorhanden, so wurden dieselben abgehoben, mit geglühtem Kaliumkarbonat völlig entwässert, filtriert, nochmals destilliert und der Siedepunktsbestimmung mittels fraktionierter Destillation unterworfen.

Die im Destillat II enthaltenen flüchtigen Säuren wurden mit Bariumhydrat neutralisiert; dann wurde die Lösung mit Kohlensäure gesättigt, zum Sieden erhitzt und nach dem Erkalten vom Bariumkarbonat abfiltriert. Das Filtrat wurde zunächst auf freier Flamme und dann im Wasserbade zum Trocknen gebracht. Der Rückstand wurde bei 130° getrocknet und gewogen. In diesen Bariumsalzen wurde dann durch Abrauchen mit Schwefelsäure der Bariumgehalt bestimmt, um aus demselben einen annähernden Rückschluß auf die Zusammensetzung machen zu können.

In folgenden Tabellen I bis IV seien zunächst die Analysenergebnisse zusammengestellt.

(Siehe Tabelle I. p. 528—529.)

Tabelle II.

1000 ccm Winogradskysche Nährlösung (2 Proz. Dextrose, 1 Proz. Calciumkarbonat) offene Kolben bei 28°.

Nummer	Geimpft mit Stamm	Dauer des Versuches	verarbeitete Menge Dextrose	Flüchtige Säuren						Liebensche Jodoformreaktion
				Menge der erhalt. Bariumsalze		zur Analyse verwendet	gibt $BaSO^4$	entsprechendes Ba	also Ba-Gehalt der Bariumsalze	
				Gesamt	auf 1 g verarbeitete Dextrose					
			g	g	g	g	g	g	%	
1	Stamm J	13. Aug. bis 25. Sept.	20,0	7,0	**0,35**	0,3704	0,3065	0,1805	**48,8**	sehr stark
2	„Gran. pectinovor.“	7. Okt. bis 12. Nov.	20,0	4,0	**0,20**	0,3256	0,2640	0,1554	**47,7**	sehr stark
3	Beij. u. van Delden	7. Okt. bis 12. Nov.	20,0	6,7	**0,34**	0,3087	0,2578	0,1519	**49,3**	sehr stark
4	Stamm H	13. Aug. bis 25. Sept.	20,0	7,6	**0,38**	0,3013	0,2558	0,1501	**49,9**	stark
5	„Gran. butylicum“	7. Okt. bis 12. Dez.	20,0	10,0	**0,50**	0,3285	0,2654	0,1568	**47,6**	mittel
6	Beijerinck	7. Okt. bis 12. Dez.	20,0	8,1	**0,42**	0,3430	0,2764	0,1627	**47,4**	mittel
7	Stamm E	13. Aug. bis 25. Sept.	20,0	12,1	**0,61**	0,3266	0,2570	0,1513	**46,4**	stark
8	„Bac. amylobacter I“ Gruber	13. Aug. bis 25. Sept.	20,0	9,0	**0,45**	0,2996	0,2399	0,1413	**47,1**	stark
9	Stamm F	7. Okt. bis 12. Dez.	20,0	7,7	**0,39**	0,3722	0,3040	0,1790	**48,1**	mittel
10	„Bac. saccharobutyricus“ v. Klecki	7. Okt. bis 12. Dez.	20,0	8,4	**0,42**	0,3000	0,2435	0,1443	**48,1**	mittel

(Siehe Tabelle III p. 530.)

Betrachten wir die sich aus diesen Tabellen ergebenden Zahlen zuerst einmal lediglich von dem Gesichtspunkte, aus ihnen Schlüsse auf die Variationsbreite der Stämme zu ziehen in bezug auf die relative Größe der Bildung von flüchtiger Säure aus 1 g verbrauchter Dextrose — ausgedrückt in Bariumsalzen — und in bezug auf die prozentische Zusammensetzung dieser Bariumsalze der flüchtigen Säuren.

Tabelle

No.	Impfung	Nährlösung und Kulturbedingungen		Dauer	Verarbeitete Menge Dextrose
		Zusammensetzung der Nährlösung	Kulturbedingung	Tage	g
1	Stamm No. 56 Bac. amylobacter aus einer Kakaopflanzung bei Soppo (Kamerungebirge)	Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	92	16,0
2		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0	aërob im offenen Kolben bei 28°	95	10,0
3		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0 $NH^4.NO^3$ (0,5-proz) 8 ccm = 14 mg N	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	92	16,0
4		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0 Asparagin (1-proz.) 8 ccm = 14,94 mg N	ebenso	92	16,0
5	Stamm No. 17 Bac. amylobacter aus einer Reispflanzung bei Buitenzorg (Java)	Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0	ebenso	92	9,8
6		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0	aërob im offenen Kolben bei 28°	95	10,0
7		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0 $NH^4.NO^3$ (0,5-proz.) 5 ccm = 8,75 mg N	ebenso	95	10,0
8		Dextrose 10,0 Min. NL. 500,0 Kreide 5,0 Asparagin (1-proz.) 5 ccm = 9,34 mg N	ebenso	95	10,0
9		Dextrose 16,0 Min. NL. 800,0 Kreide 8,0 Asparagin (1-proz.) 8 ccm = 14,94 mg N	anaërob im N-Strome bei Zimmertemperatur	92	16,0

Wenn man

1) *ganz allgemein das Mittel und die Variationsbreite* für Säurebildung — auf 1 g verarbeitete Dextrose — und Ba-Gehalt der flüchtigen Säuren unter allen verschiedenen angewendeten Verhältnissen für alle untersuchten Stämme (10 verschiedene Stämme, verschiedene Nährlösungen mit verschiedenem Dextrosegehalt, verschiedenem Stickstoffzusatz — Pepton, Asparagin, Ammoniumnitrat — mit und ohne Kreide, verschiedene Temperatur, verschieden lange Kultivierungszeit,

Digitized by Google | Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

I.

Flüchtige Säuren						Alkohole	
Menge der erhaltenen Ba-Salze		Zusammensetzung dieser Bariumsalze					
Gesamt g	pro 1 g verarbeit. Dextrose g	zur Analyse verwandt g	gibt Ba SO^4 g	entspr. Ba g	also Proz. Gehalt der Ba-Salze an Ba[1] Proz.	Liebensche Jodoformreaktion	Bemerkung
11,16	**0,698**	0,3226	0,2620	0,1542	**47,80**	negativ	
7,12	**0,712**	0,3041	0,2463	0,1450	**47,68**	negativ	
11,60	**0,725**	0,3534	0,2816	0,1658	**46,92**	negativ	
11,30	**0,706**	0,3868	0,3115	0,1834	**47,42**	negativ	
4,14	**0,422**	0,2160	0,1783	0,1050	**48,61**	**ziemlich kräftig**	Durch Aussalzen mit Pottasche schieden sich bei 5, 7, 8 und 9 nach längerem Stehen einige wenige ölige farblose Tropfen aus, die stark nach Amylalkohol riechen. Ihre Menge reichte zu einer näheren Untersuchung nicht aus
5,21	**0,521**	0,3018	0,2400	0,1413	**46,82**	**sehr schwach**	
4,15	**0,415**	0,3046	0,2384	0,1404	**46,09**	**ziemlich kräftig**	
5,00	**0,500**	0,3036	0,2297	0,1352	**44,53**	**ziemlich kräftig**	
8,04	**0,503**	0,3090	0,2440	0,1436	**46,47**	**schwach**	

offener Kolben, Stickstoffstrom etc.) berechnet, so ergeben die 34 Fälle, in denen die auf 1 g verbrauchte Dextrose gebildeten flüchtigen Säuren bestimmt wurden, einen Mittelwert von 0,534 g Bariumsalz auf 1 g Dextrose; unter diesen Fällen wurde als Maximum (Tab. III, No. 15)

---

[1] Buttersaures Barium $(C_4H_7O_2)_2Ba$ enthält = 44,05 Proz. Ba.
propionsaures „ $(C_3H_5O_2)_2Ba$ „ = 48,41 „ „
essigsaures „ $(C_2H_3O_2)_2Ba$ „ = 53,73 „ „
ameisensaures „ $(CHO_2)_2Ba$ „ = 60,35 „ „

Tabelle III. Offener Kolben bei Zimmertemperatur, ca. 18° C.

Nummer	Vgl. hierzu auch Tab. im Kap. IV „Stickstoffassimilation" No.	Geimpft mit Bac. amylobacter Stamm	Nährlösung (Winogradskysche mineralische Stammlösung mit 1 Proz. Kreide)	Dauer des Versuches	verarbeitete Menge Dextrose g	Flüchtige Säuren: Menge der erhaltenen Ba-Salze: Gesamt g	Flüchtige Säuren: Menge der erhaltenen Ba-Salze: auf 1 g verarbeitete Dextrose g	Flüchtige Säuren: zur Analyse verwandt g	Flüchtige Säuren: gibt $BaSO^4$ g	Flüchtige Säuren: entspr. Ba g	Flüchtige Säuren: also Ba-Gehalt der Bariumsalze %	Liebensche Jodoformreaktion
1	III 1	Stamm A (Winogradsky)	800 ccm + 1 Proz. Dextrose	7. März bis 13. Juli	8,0	5,3	**0,66**	0,3425	0,2760	0,1625	**47,3**	schwach
2	„ 4	„ 83 (Möhren Marburg)		4. März bis 23. Juli	8,0	5,0	**0,63**	0,3061	0,2401	0,1413	**46,2**	schwach
3	„ 2	„ A	800 ccm + 2 Proz. Dextrose	7. März bis 25. Juli	16,0	11,6	**0,73**	0,3220	0,2620	0,1543	**47,9**	mittel
4	„ 5	„ 83		4. März bis 23. Juli	?	1,1	?	0,3116	0,2484	0,1460	**46,8**	keine
5	„ 3	„ A	800 ccm + 4 Proz. Dextrose	7. März bis 25. Juli	32,0	24,4	**0,76**	0,2928	0,2372	0,1395	**46,8**	stark
6	„ 6	„ 83		4. März bis 24. Juli	11,2	9,0	**0,80**	0,3110	0,2562	0,1507	**48,5**	mittel
7	IV 1	„ A	1000 ccm + 2 Proz. Dextrose + 3,5 mg N als $(NH^4)_2SO^4$	7. März bis 23. Juli	20,0	4,0	**0,20**	0,3034	0,2516	0,1484	**49,0**	mittel
8	„ 6	„ 83		4. März bis 23. Juli	12,2	6,2	**0,51**	0,3040	0,2484	0,1460	**48,0**	stark
9	„ 2	„ A	500 ccm + 2 Proz. Dextrose + 1,6 mg N als Pepton	7. März bis 25. Nov.	10,0	1,8	**0,18**	0,3205	0,2451	0,1443	**45,0**	schwach
10	„ 7	„ 83		4. März bis 25. Nov.	3,8	1,4	**0,37**	0,3540	0,2896	0,1708	**48,2**	keine
11	„ 3	„ A	500 ccm + 2 Proz. Dextrose + 8 mg N als Pepton	7. März bis 20. Nov.	10,0	7,4	**0,74**	0,3106	0,2474	0,1454	**46,9**	stark
12	„ 8	„ 83		4. März bis 25. Nov.	4,5	1,7	**0,38**	0,3046	0,2452	0,1443	**47,5**	mittel
13	„ 4	„ A	500 ccm + 2 Proz. Dextrose + 40 mg N als Pepton	7. März bis 25. Nov.	10,0	7,2	**0,72**	0,3012	0,2422	0,1425	**47,3**	stark
14	„ 9	„ 83		4. März bis 25. Nov.	4,0	2,2	**0,55**	0,3212	0,2545	0,1496	**46,6**	schwach
15	„ 5	„ A	900 ccm + 2 Proz. Dextrose + 160 mg N als Pepton	7. März bis 17. Nov.	10,0	9,8	**0,98**	0,3275	0,2624	0,1543	**47,1**	mittel
16	„ 10	„ 83	500 ccm + 2 Proz. Dextrose + 80 mg N als Pepton	4. März bis 28. Nov.	3,9	2,6	**0,67**	0,3030	0,2381	0,1401	**46,3**	mittel

0,980 g und als Minimum (III 9) 0,180 g Bariumsalz aus 1 g verbrauchte Dextrose erhalten. Das entspricht einer Differenz um + 0,446 und — 0,354 g vom Mittelwert oder um + 45,5 Proz. und — 36,1 Proz. (s. a. Tab. V). Aus den 65 Fällen, in denen der Bariumgehalt der Salze bestimmt wurde, berechnet sich ein Mittel von 48,3 Proz. Ba. Unter diesen Fällen wurde als Maximum 53,7 Proz. (IV 20) und als Minimum 44,5 Proz. (I 8) gefunden, was einer Abweichung von + 5,4 und — 3,8 oder um + 11 Proz. und — 8 Proz. vom Mittel entspricht.

(Siehe Tabelle IV p. 532—533.)

Berechnet man ferner:

2) das Mittel und die Variationsbreite für die relative Menge der auf 1 g verbrauchter Dextrose gebildeten flüchtigen Säuren und für den Bariumgehalt derselben für gleiche Verhältnisse und verschiedene Stämme,

3) dasselbe für gleiche Verhältnisse und gleiche Stämme,

4) für verschiedene Verhältnisse und gleiche Stämme,

so ergeben sich folgende Werte, welche der Uebersichtlichkeit wegen zu einer Tabelle zusammengestellt werden sollen.

(Siehe Tabelle V p. 534—535.)

Aus dieser Tabelle geht sehr schön hervor, daß die Variationsbreite für die Bildung flüchtiger Säure aus 1 g verarbeiteter Dextrose und für den Bariumgehalt dieser flüchtigen Säuren (gleiche Verhältnisse vorausgesetzt — Abteilung 2 und 4 der Tabelle V) der verschiedenen Stämme nicht größer ist, als die eines einzigen Stammes. Selbst für verschiedene Verhältnisse bewegt sich die Variationsbreite eines Stammes in ähnlichen Grenzen, wenigstens für den Bariumgehalt, während sich die Variationsbreite für Säurebildung bei gleichen Stämmen und verschiedenen Verhältnissen als in weiteren Grenzen schwankend erwies. Daß sich die Abweichungen vom Mittel, welches sich, ganz allgemein für die verschiedenen Verhältnisse und die verschiedenen Stämme berechnet, als bisweilen erheblich herausstellte, kommt von einigen anormalen Fällen (siehe Tabelle III), in denen abnorm reichliche oder geringe Säurebildung stattfand; würden wir diese anormalen Fälle unberücksichtigt lassen, so würden sich hier die Verhältnisse ebenso stellen, wie die übrigen.

Es geht also auch hier das wieder klar hervor, daß sich alle Stämme auch hinsichtlich der Menge der aus 1 g verarbeiteter Dextrose gebildeten flüchtigen Säure und der Zusammensetzung derselben recht gleichartig verhielten, indem vorkommende Abweichungen lediglich als fluktuierende Variation anzusehen sind. Aus diesem Grunde ist es auch nicht möglich, Schlüsse über den Einfluß der Kulturbedingungen auf die Menge und Zusammensetzung der gebildeten flüchtigen Säuren mit annähernder Sicherheit machen zu können. In Tabelle III scheint vielleicht durch Zusatz von geringen Mengen Stickstoff in Form von Pepton und Ammoniumnitrat die relative Säuremenge herabgedrückt zu sein (7, 8, 9, 10), um dann bei Zusatz von viel Pepton proportional der Menge des dargereichten Stickstoffs wieder zu steigen (11—16); ebenso scheint die relative Menge der gebildeten Säure proportional der Dextrosekonzentration zu steigen (III, 1—6), doch muß es fraglich erscheinen, ob diese Verhältnisse sich nicht auf rein zufällige Variationserscheinungen zurückführen lassen, denn die durch die verschiedene Stickstoffgabe beobachteten Abweichungen treten z. B. in Tabelle I keineswegs hervor.

Während so eine Abhängigkeit der Säurebildung von den Kultur-

Tabelle

Reihe		No.	Geimpft mit Stamm	Nährlösung Dextrose ²) 50,0 Pepton 0,25 Mineral. NL. 500,0	Temperatur Grad C	Dauer
I	a	1	Clostr. americanum	mit 1 Proz. CaCO^3	30	7 Tage
		2	Clostr. β			
	b	3	Clostr. americanum	ohne CaCO^3	30	7 Tage
		4	Clostr. β			
	c	5	Clostr. americanum	mit 1 Proz. CaCO^3	8	7 Tage
		6	Clostr. β			
II	a	7	Clostr. americanum	mit 1 Proz. CaCO^3	30	3 Wochen
		8	Clostr. β			
	b	9	Clostr. americanum	ohne CaCO^3	30	3 Wochen
		10	Clostr. β			
	c	11	Clostr. americanum	mit 1 Proz. CaCO^3	8	3 Wochen
		12	Clostr. β			
	d	13	Clostr. americanum	ohne CaCO^3	8	3 Wochen
		14	Clostr. β			
III		15	Clostr. americanum	mit 1 Proz. CaCO^3	30	5 Wochen
		16				
		17	Clostr. β			
		18				
III a		19	Granulob. butylicum	mit 1 Proz. CaCO^3	30	5 Wochen
IV	a	20	Granulob. butylicum	Weizenmehl Weizenkleie āā 75,0 Wasser 1000,0 Kreide 10,0	30	2 Wochen
		21	Clostr. americanum			
		22	Clostr. β			
	b	23	Clostr. americanum		8	2 Wochen
V	a	24	Clostr. americanum	Kartoffeln 330,0 Wasser 1000,0 Kreide 10,0	30	4 Wochen
		25	Clostr. β			
		26	B. amylob. Gruber			
	b	27	Clostr. americanum		8	4 Wochen
VI	a	28	Clostr. americanum	Milch 1000,0 Kreide 10,0	30	4 Wochen
		29	Clostr. β			
	b	30	Clostr. americanum		8	4 Wochen
VII	a	31	Clostr. americanum	Weizenkleie Weizenmehl āā 75,0 Wasser 1000,0 (keine Kreide!)	ca. 25	2 Wochen
		32	Granulob. pectinovorum			
		33	B. amylob. Gruber			
		34	B. saccharob. Klecki			
		35	St. 84			
	b	36	Clostr. Pasteurianum		ca. 25	8 Wochen
VIII		37	Clostr. americanum	Weizenkleie Weizenmehl āā 75,0 Wasser 1000,0 Kreide 10,0	ca. 25	4 Wochen
		38	Granulob. pectinovorum			
		39	B. amylob. Gruber			
		40	B. saccharob. Klecki			
		41	St. 84			
		42	Clostr. Pasteurianum			

---

1) Zusammensetzung (Siedepunktsbestimmung) siehe Tabelle VI, p. 537.

2) „Traubenzucker käufl." von **Kahlbaum**.

I V.

Flüchtige Säuren					Liebensche Jodoformreaktion	Bemerkungen
Gesamtmenge der erhaltenen Ba-Salze g	Zusammensetzung dieser Bariumsalze					
	zur Analyse verwandt g	geben $BaSO^4$ g	entsprechend Ba g	also Proz. Gehalt der Bariumsalze an Barium		
2,6	0,3490	0,2860	0,1648	**47,2**	keine	—
2,4	0,3075	0,2600	0,1531	**49,8**	schwach	—
2,2	0,3280	0,2643	0,1556	**47,7**	stark	—
2,8	0,3128	0,2732	0,1608	**51,4**	stark	—
2,3	0,3106	0,2686	0,1585	**51,0**	keine	—
1,4	0,3076	0,2598	0,1529	**49,7**	stark	—
3,6	0,3624	0,2846	0,1676	**46,2**	stark	—
1,5	0,3191	0,2743	0,1615	**50,6**	stark	—
0,8	0,3120	0,2746	0,1616	**51,8**	stark	—
1,0	0,3260	0,2708	0,1594	**48,9**	stark	—
4,3	0,3898	0,3192	0,1968	**50,5**	schwach	—
2,5	0,3490	0,2788	0,1641	**47,0**	stark	—
2,6	0,3300	0,2950	0,1737	**52,7**	stark	—
1,7	0,3172	0,2669	0,1645	**51,8**	stark	—
4,5	0,3300	0,2644	0,1557	**46,7**	sehr stark	—
3,9	0,3018	0,2422	0,1426	**47,2**	sehr stark	—
2,6	0,3194	0,2550	0,1501	**47,0**	sehr stark	—
4,0	0,3448	0,2884	0,1698	**49,2**	sehr stark	—
3,4	0,3053	0,2417	0,1423	**46,6**	sehr stark	—
6,4	0,3035	0,2768	0,1629	**53,7**	sehr stark	Ca. 25,0 ccm Alkohol 1)
6,6	0,3200	0,2798	0,1647	**51,5**	sehr stark	Ca. 20,0 ccm Alkohol 1)
13,5	0,3307	0,2686	0,1581	**47,8**	sehr stark	Ca. 1,0 ccm Alkohol
11,2	0,3184	0,2512	0,1479	**46,5**	stark	Einige Tropfen Alkohol
8,4	0,3138	0,2567	0,1511	**48,2**	sehr stark	Ca. 10,0 ccm Alkohol 1)
12,3	0,3070	0,2513	0,1479	**49,3**	sehr stark	Ca. 10,0 ccm Alkohol 1)
15,7	0,4116	0,3330	0,1960	**47,6**	sehr stark	Ca. 15,0 ccm Alkohol 1)
13,2	0,3210	0,2512	0,1479	**46,1**	sehr stark	Ca. 10,0 ccm Alkohol 1)
5,8	0,3170	0,2536	0,1493	**47,1**	schwach	Geronnen, unten Serum, oben loser Kuchen, angenehmer käseartiger Geruch.
5,0	0,3096	0,2525	0,1489	**48,1**	stark	
5,5	0,3070	0,2595	0,1528	**49,8**	stark	Nicht geronnen, nicht unangenehmer Geruch nach altem Käse
—	—	—	—	—	sehr stark	Ca. 2,5 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	sehr stark	Ca. 2,0 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Einige Tropfen Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Ca. 1,0 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Einige Tropfen Alkohol
—	—	—	—	—	sehr stark	Ca. 2,0 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	sehr stark	Ca. 2,0 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Einige Tropfen Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Einige Tropfen Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Einige Tropfen Alkohol
—	—	—	—	—	sehr stark	Ca. 1,0 ccm Alkohol
—	—	—	—	—	stark	Ca. 0,5 ccm Alkohol

Tabelle V. Mittel und Variationsbreite für Bildung flüchtiger Säuren aus 1 g verarbeiteter Dextrose und für den Ba-Gehalt dieser Säuren.

Kulturbedingungen etc. vergleiche		Anzahl der Einzelbestimmungen	1. Menge der aus 1 g verarbeiteter Dextrose gebildeten flüchtigen Säuren (ausgedrückt in Ba-Salzen derselben)			2. Bariumgehalt dieser flüchtigen Säuren in Prozenten		
			Mittel aus den Einzelbestimmungen	Größte vorkommende Abweichungen nach oben (+) und nach unten (—) von diesem Mittel		Mittel aus den Einzelbestimmungen	Größte vorkommende Abweichungen nach oben (+) und nach unten (—) von diesem Mittel	
Tabelle	No.		g	ausgedrückt in direkten Zahlen	ausgedrückt in Proz.	g	ausgedrückt in direkten Zahlen	ausgedrückt in Proz.
1) Ganz allgemein für die verschiedenen Verhältnisse und die verschiedenen Stämme.								
I	1— 9	Säuremenge: 34 Ba-Gehalt: 65	0,534	+ 0,446	**+ 83,7**	48,3	+ 5,4	**+ 11,0**
II	1—10							
III	1—16			— 0,354	**— 65,2**		— 3,8	**— 8,0**
IV	1—30							
2) Für gleiche Verhältnisse und verschiedene Stämme.								
	1, 5	2	0,56	± 0,14	**± 25,0**	48,2	± 0,4	± **0,8**
	4, 9	2	0,60	± 0,10	**± 16,6**	47,0	± 0,4	± **0,9**
I	2, 6	2	0,61	± 0,10	**± 16,4**	47,3	± 0,4	± **0,9**
II	1, 4	4	0,42	+ 0,11	**+ 26,4**	48,4	+ 0,4	+ **0,8**
II	7, 8			— 0,07	**— 16,7**		— 1,6	— **3,3**
III	1, 2	2	0,64	± 0,01	± **1,6**	46,8	± 0,4	± **0,9**
III	3, 4	2	—	—	—	47,3	± 0,6	± **1,3**
III	5, 6	2	0,78	± 0,02	± **2,6**	47,7	± 0,9	± **1,9**
III	7, 8	2	0,35	± 0,15	**± 42,9**	48,5	± 0,5	± **1,0**
III	9, 10	2	0,28	± 0,10	**± 35,7**	46,6	± 1,6	± **3,4**
III	11, 12	2	0,56	± 0,18	**± 33,3**	47,2	± 0,3	± **0,7**
III	13, 14	2	0,63	± 0,08	**± 12,7**	47,0	± 0,3	± **0,7**
III	15, 16	2	0,82	± 0,15	**± 18,1**	46,7	± 0,4	± **0,9**
IV	1, 2	2	—	—	—	48,5	± 1,3	± **2,7**
IV	3, 4	2	—	—	—	49,6	± 1,8	± **3,6**
IV	5, 6	2	—	—	—	50,3	± 0,6	± **1,2**
IV	7, 8	2	—	—	—	48,4	± 2,2	± **4,5**
IV	9, 10	2	—	—	—	50,3	± 1,5	± **3,0**
IV	11, 12	2	—	—	—	48,8	± 1,8	± **3,7**
IV	13, 14	2	—	—	—	52,3	± 0,4	± **0,8**
IV	15, 16	2	—	—	—	46,5	± 0,2	± **0,4**
IV	17, 18	2	—	—	—	48,1	± 1,1	± **2,3**
IV	20, 21, 22	3	—	—	—	51,0	+ 2,7 — 3,2	+ **5,3** — **6,3**
IV	24, 25, 26	3	—	—	—	48,4	+ 0,9 — 0,8	± **0,2**
IV	28, 29	2	—	—	—	47,6	± 0,5	± **1,1**
3) Für verschiedene Verhältnisse und gleiche Stämme.								
I	1—4	4	0,71	+ 0,01 — 0,01	± **1,4**	47,5	+ 0,3 — 0,6	+ **0,6** — **1,2**
I	5—9	5	0,47	+ 0,05 — 0,05	**± 10,6**	46,5	+ 2,1 — 2,0	+ **4,5** — **4,3**
III	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16	8	0,56	+ 0,24 — 0,19	**+ 42,9** **— 33,9**	47,3	+ 1,2 — 1,1	+ **2,5** — **2,3**
III	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15	8	0,62	+ 0,38 — 0,44	**+ 61,3** **— 71,1**	47,1	+ 1,9 — 2,1	+ **4,0** — **4,5**
IV	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 21, 23, 24, 27, 28, 30	15	—	—	—	48,7	+ 4,0 — 2,6	+ **8,2** — **5,6**
IV	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 18, 22, 25, 29	12	—	—	—	49,1	+ 2,8 — 2,1	+ **5,7** — **4,3**

Kulturbedingungen etc. vergleiche		Anzahl der Einzelbestimmungen	1. Menge der aus 1 g verarbeiteter Dextrose gebildeten flüchtigen Säuren (ausgedrückt in Ba-Salzen derselben)			2. Bariumgehalt dieser flüchtigen Säuren in Prozenten		
			Mittel aus den Einzelbestimmungen g	Größte vorkommende Abweichungen nach oben (+) und nach unten (—) von diesem Mittel		Mittel aus den Einzelbestimmungen g	Größte vorkommende Abweichungen nach oben (+) und nach unten (—) von diesem Mittel	
Tabelle	No.			ausgedrückt in direkten Zahlen	ausgedrückt in Proz.		ausgedrückt in direkten Zahlen	ausgedrückt in Proz.
	4) Für gleiche Verhältnisse und gleiche Stämme.							
II	1, 2, 3	3	0,30	+ 0,04 — 0,10	**+ 13,3** **— 33,3**	48,6	+ 0,7 — 0,9	**+ 1,4** **— 1,8**
II	4, 5, 6	3	0,43	+ 0,13 — 0,05	**+ 30,0** **— 11,9**	48,3	+ 1,6 — 0,9	**+ 3,3** **— 1,9**
II	7, 8	2	0,53	± 0,08	**+ 15,1** **— 15,1**	46,8	+ 0,3 — 0,4	**+ 0,6** **— 0,9**
II	9, 10	2	0,40	± 0,02	**± 5,0**	48,1	± 0,0	**± 0,0**

bedingungen mit Sicherheit nicht zu erkennen ist, tritt eine solche bei der Alkoholbildung scharf zutage. Hier zeigen die Versuche mit Weizen- und Kartoffelmaische (Tabelle IV, 20—27, 31—42), daß in der Tat äußere Verhältnisse von schwerwiegendem Einflusse sind, denn nur in diesen Nährlösungen würden einigermaßen greifbare Mengen von Alkoholen erhalten. Leider sind diese Versuche nicht hinreichend, um weitgehendere Schlüsse auf die Variationsbreite machen zu können, da nicht genügend Zahlenmaterial über die Alkoholbildung gleicher Stämme unter gleichen Verhältnissen erhalten wurde. Vergleichbar sind aus Tabelle IV höchstens die No. 21, 23, 24, 27, 31, 37.

No.	21	(Weizenmaische	+	Kreide,	2	Wochen	30°)	20,0 ccm	Alkohol
„	37	(„	+	„	4	„	25°)	2,0 „	„
„	24	(Kartoffelmaische	+	„	4	„	30°)	10,0 „	„
„	27	(„	+	„	4	„	8°)	10,0 „	„
„	23	(Weizenmaische	+	„	4	„	8°)	einige Tropfen	„
„	31	(„	ohne	„	2	„	28°)	2,5 ccm	„

Aber auch hier sind unter annähernd gleichen Verhältnissen (21 + 37) die Mengen sehr schwankend, während andererseits unter verschiedenen Verhältnissen (24 + 27) die Alkoholmengen gleich groß, aber auch (27 + 23) sehr verschieden groß sein können.

Daß die Alkoholausbeute selbst unter gleichen Versuchsbedingungen eine sehr schwankende Größe ist, ist bekannt (Beijerinck, Pringsheim, Grassberger und Schattenfroh).

Nach den Angaben einiger Autoren (Grimbert 1893, Pringsheim 1906) soll Kreidezusatz die Alkoholausbeute vermindern, umgekehrt beobachteten andere (Duclaux 1895) in Kulturen mit Kreidezusatz stärkere Alkoholausbeute, als in solchen ohne Kreide. Grimbert gibt an, daß in sich mehr und mehr säuernden Kulturen verhältnismäßig viel Alkohol und wenig Säure gebildet wurde, während bei Kreidezusatz sich die Verhältnisse umgekehrt gestalteten. Daß das, wenigstens was die Alkoholbildung anbelangt, nicht zu verallgemeinern ist, zeigt eine

Gegenüberstellung der Versuche in Tabelle IV, 20—23 und 31—36, in der ersten Reihe mit Kreidezusatz wurde verhältnismäßig viel, in der zweiten ohne Kreidezusatz verhältnismäßig wenig Alkohol gebildet, doch treten dieselben Schwankungen bei gleichen Reihen auf (s. oben) und auch bei Wiederholung der Versuche mit Kreide (IV, 37—42) wurde nur wenig Alkohol gebildet. Es ist wohl anzunehmen, daß die Beeinflussung der Alkoholbildung durch Kreidezusatz, welche man beobachtet haben will, in erster Linie auf die Variation, die, wie wir ja sehen, außerordentlich groß ist, zurückgeführt werden kann.

Die Mengen der gebildeten Alkohole soll nach den Versuchen Grimberts zu den Mengen der gebildeten flüchtigen Säuren in einem gewissen umgekehrten Verhältnis stehen. Das scheint auch aus Versuchen der Tabelle IV, 20—27, hervorzugehen, z. B.:

Tabelle IV. 20. 6,4 g fettsaure Ba-Salze = 25 ccm Alkohole
„ „ 21. 6,6 „ „ „ = 20 „ „
„ „ 22. 13,5 „ „ „ = 1 „ „
„ „ 23. 11,2 „ „ „ = Spuren „

Ob jedoch nicht auch diese Werte zum Teil durch fluktuierende Variation zu erklären sind, muß noch dahingestellt bleiben.

Betrachten wir kurz die Zusammensetzung der flüchtigen Säuren und der Alkohole, so treten auch da dieselben unvorhergesehenen und nicht vorher bestimmbaren Veränderlichkeiten hervor. Die flüchtigen Säuren enthalten neben Buttersäure noch stets mehr oder weniger große Mengen flüchtiger Säuren von niedrigerem Molekulargewicht, wahrscheinlich Propion-, Essig- und Ameisensäure. Wodurch das Vorherrschen der einen oder anderen dieser Säuren veranlaßt wird, läßt sich aus den Versuchen nicht ersehen. Winogradsky hatte sich bemüht, eine Abhängigkeit des Verhältnisses von Buttersäure zu Essigsäure in den durch seinen Stamm gebildeten flüchtigen Säuren von der Menge der Stickstoffnahrung herauszufinden, jedoch waren seine Bemühungen vergeblich, „das Verhältnis ist offenbar, wie auch sonst bei anderen Buttersäuregärungen, eine aus inneren Ursachen schwankende Größe, welche sich nicht vorausbestimmen läßt“.

Zusammensetzung der gebildeten Alkohole. Die Alkohole waren durch Aussalzen mit Pottasche gewonnen, sie wurden abgehoben, mit geglühter Pottasche entwässert und nochmals destilliert. Es blieb dabei stets eine geringe Menge einer fettartigen, in Wasser unlöslichen, in Alkohol leicht löslichen Substanz von undefinierbarem Geruche zurück. Alle Destillate waren von schwach gelblicher Farbe und mehr oder weniger stark ausgeprägtem Geruche nach Amylalkohol. Die Untersuchung der Alkohole geschah der oft nur wenige Kubikzentimeter betragenden geringen Mengen wegen nur durch fraktionierte Destillation und Siedepunktsbestimmungen. In folgender Zusammenstellung sind die erhaltenen Werte mitgeteilt.

(Siehe Tabelle VI p. 537.)

Als bei der Gärung entstehende Alkohole könnten in Betracht kommen:

Aethylalkohol,	Siedepunkt	78,4°
sekundärer Propylalkohol (Isopropylalkohol),	„	81,3°
primärer „	„	97,4°
„ Isobutylalkohol	„	108,0°
„ Normalbutylalkohol	„	116,9°

Tabelle VI.

Zusammensetzung der durch verschiedene Stämme des Bac. amylobacter A. M. et Bred. gebildeten Alkohole.

No.	Aus Tabelle IV p. 146/7 No.	Bac. amylobacter Stamm	Nährlösung	Dauer des Versuches	Temperatur	Zusammensetzung der Alkohole
						Es gehen über zwischen:
1	21	Stamm B „Clostr. american.“ Pringsheim	Weizenkleie, Weizenmehl āā 75,0 Wasser 1000 Kreide 10	17./6.—1./7.	30°	90—100° = ca. 3 ccm = ca. 17 Proz. 109—112° (konstant) = ca. 6 ccm = „ 33 „ 112—114° = ca. 3 ccm = „ 17 „ 115—117° = „ 6 „ = „ 33 „
2	20	Stamm H „Granulob. butylic.“ Beijerinck	ebenso	19./6.—1./7.	30°	84— 90° = „ 3 „ = „ 12 „ 95° (konstant) = ca. 4 ccm = „ 17 „ 96—106° = ca. 8 ccm = „ 33 „ 107—114° = „ 7 „ = „ 30 „ 115—117° = „ 2 „ = „ 8 „
3	24	Stamm B „Clostr. american.“ Pringsheim	Kartoffeln 330,0 Wasser 1000,0 Kreide 10,0	19./6.—15./7.	30°	97—105° = „ 2 „ = „ 22 „ 106—114° = „ 4 „ = „ 45 „ 114—116,5° = „ 3 „ = „ 33 „
4	25	Stamm D „Clostr. β“ Haselhoff et Bredemann	ebenso	19./6.—16./7.	30°	bei 96° = „ 1 „ = „ 10 „ 97—105° = „ 1 „ = „ 10 „ 106—113° = „ 7 „ = „ 70 „ 114—116° = „ 1 „ = „ 10 „
5	26	Stamm E „Bac. amylobacter I“ Gruber	ebenso	19./6.—15./7.	30°	96—105° = „ 3 „ = „ 30 „ 112,5° (konstant) = ca. 2 ccm = „ 20 „ 116° „ = „ 6 „ = „ 60 „
6	27	Stamm B „Clostr. american.“ Pringsheim	ebenso	19./6.—17./7.	8,0°	98—105° = ca. 1 ccm = „ 10 „ 106—109° = „ 5 „ = „ 50 „ 110—116° = „ 4 „ = „ 40 „

dann eventuell Amylalkohole (Pentylalkohole):

tertiärer		Isoamylalkohol,	Siedepunkt	102,5°
sekundärer		„	„	112,5°
„	(β)	Normalamylalkohol,	„	116—117°
„	(α)	„	„	118—119,5°
primärer	(β)	Isoamylalkohol	„	128,7°
„	(α)	„	„	130,0°
„		Normalamylakohol	„	137,0°

Die verschiedenartige Zusammensetzung der Alkohole, welche die verschiedenen von den verschiedenen Autoren untersuchten Stämme bildeten, war einer der Hauptgründe mit zur Aufstellung der verschiedenen „Species“, aber schon Andeutungen in der Literatur lassen darauf schließen, daß die Natur dieser Gärungsprodukte, nach denen die „Species“ benannt wurden, auch nicht konstant ist, so sollte Granulobacter butylicum nach Beijerincks erster Mitteilung (1893) als charakteristisches Gärungsprodukt fast reinen Butylalkohol liefern, der nur mit kleinen Mengen eines niedriger siedenden Alkohols verunreinigt sei. Später finden wir (1899) in einer Anmerkung die kurze Mitteilung, daß dieses „Butylferment“ größere Mengen normalen Propylalkohols als Butylalkohols bilde „il aurait mieux lui donner le nom de ferment propylique“. Auch Winogradsky zeigte, wie verschieden die unter gar nicht sehr verschiedenen Bedingungen erhaltenen Alkohole sein können. Von den Resultaten, die er mit seinem Stamm (1902) erhielt, seien hier einige zusammengestellt.

Zusammensetzung der Nährlösung	Geimpft mit	Kulturbedingungen	Dauer des Versuches	Temperatur	Alkohol	Flüchtige Säuren	
						Proz. vom Zucker	Buttersäure zu Essigs.
Dextrose 40, min. Nährlösung 1000, Kreide-Ueberschuß	Reinkultur	1½ cm hohe Schicht, Durchleitung eines N-Stromes	14 Tage	?	ca. ⅓ ccm ölig und n. Fuselöl riechend. Siedep. 108°. Isobutylalkohol (?)	44,7	2,6 : 1
2 Proz. Dextrose + 0,5 Proz. Ammonsulfat	do.	do.	4 Wochen	?	½ ccm fast reinen Aethylalkohols	—	6,0 : 1
ebenso	do.	do.	10	?	5 ccm Aethyl + Butylalkohol	—	8,0 : 1
2 Proz. Dextrose + 0,5 Proz. Pepton	do.	do.	10 „	?	Spuren	—	23,0 : 1
2 Proz. Dextrose + 0,64 Proz. Pepton	do.	do.	7 „	?	„	—	1,5 : 1
1 Proz. Dextrose + 1,0 Proz. Pepton	do.	do.	?	?	„	42,0	1,5 : 1
1 Proz. Dextrose + 0,6 Proz. Asparagin	do.	do.	3 Wochen	?	0,5 ccm Butylalkohol	—	4,0 : 1
Dextrose 20,0, min. Nährlösung 1000, Kreide 15, Ammonsulfat 0,01	do. + aërobe Arten	1½ cm hohe Schicht, freier Luftzutritt, von Zeit zu Zeit Luft durchgeleitet	?	?	0,5 ccm Alkohol v. Siedep. 97,4. (Propylalkohol ?)	45,0	4,0 : 1

Gleichzeitig sieht man aus der letzten Spalte die verschiedene Menge und verschiedene Zusammensetzung der gebildeten flüchtigen Säuren.

Genau dieselben Verschiedenheiten ergeben sich aus meinen Versuchen. Die Zusammensetzung der Alkohole scheint, soweit sich dies aus der groben Untersuchungsweise schließen läßt, recht schwankend zu sein, wenn auch nur in bestimmten Grenzen. Der Hauptunterschied besteht darin, daß die Menge der niedrig siedenden Alkohole eine sehr schwankende ist. Dagegen war allen Alkoholen das gemeinsam, daß höher als bei 117° siedende Alkohole in keinem Falle gebildet waren, wenigstens nicht in nachweisbaren Mengen, wenn auch durch den Geruch die Anwesenheit von Amylalkohol als ganz sicher feststand.

Pringsheim fand auffallenderweise, daß sein Stamm sehr konstant zusammengesetzte Alkohole lieferte, „denn gekochte Kartoffeln, Kartoffelstärke, die bis zum Verschwinden der Jodreaktion mit Malz hydrolysiert war, Melasse und reine Glukose ergaben dieselben Alkohole“. Bei meinen Versuchen mit demselben Stamme wurde diese Gleichartigkeit der gebildeten Alkohole nicht beobachtet.

Interessant ist es, die Angaben anderer Autoren über die Zusammensetzung der Alkohole, welche durch ihre Bakterien gebildet werden, mit meinen Werten zu vergleichen, die ich mit denselben Stämmen erzielte. Das Butylferment par excellence Beijerincks, welches, wie erwähnt, nach Beijerincks ersten Angaben fast ausschließlich Butylalkohol neben wenig Propylalkohol erzeugte, nach einer späteren Mitteilung größere Mengen Propylalkohol als Butylalkohol, bildete bei meinen Versuchen nicht unerhebliche Mengen von sehr niedrig siedendem Alkohol und daneben wohl meist Propylalkohol neben Normalbutylalkohol und vielleicht Isobutylalkohol (s. Tabelle VI, No. 2). Der Pringsheimsche Stamm („Clostr. americanum“), welcher nach Pringsheim konstant ein Gemisch aus annähernd 1 Teil Isopropylalkohol und 4 Teilen Normalbutylalkohol bildet, bildete bei meinen Versuchen nur in einem Falle geringe Mengen unter 90° siedenden Alkohols (Tab. VI, 1), dagegen scheinbar verhältnismäßig viel Isobutylalkohol und unterschied sich auch in dieser Hinsicht nicht von dem gleichzeitig untersuchten Stamm Grubers (VI, 5) und Haselhoff und Bredemanns (VI, 4). Das schließt natürlich nicht aus, daß er unter Umständen auch Isopropylalkohol in größeren Mengen bildet, aber auch dies ist keine spezifische Fähigkeit dieses Stammes, denn der Beijerinck sche Stamm (VI, 2) scheint bei meinen Versuchen auch Isopropylalkohol (84°!) gebildet zu haben.

Grimbert (1893) hat versucht, einige der Verhältnisse, welche auf die Natur der Gärungsprodukte von Einfluß sein können, zu erforschen. Er macht sehr richtig darauf aufmerksam, daß die meisten der Forscher, die sich mit dem Studium der Anaërobengärungen beschäftigt haben, ihr Hauptaugenmerk darauf richteten, peinlich genau die Natur der gebildeten Produkte zu untersuchen, dabei aber versäumten, sich um die Umstände, welche die Gärung und deren Produkte eventuell beeinflussen und ändern können, zu bekümmern, und gab sich daher Mühe, den Einfluß der Reaktion des Nährbodens, des Alters und der Vorbehandlung der Aussaat, wie die Dauer der Gärung auf die Gärungsprodukte seines Bac. orthobutyricus zu untersuchen, und kam auch zu gewissen Ergebnissen, ob jedoch das Moment der fluktuierenden Variation von ihm genügend berücksichtigt worden ist, erscheint zweifelhaft.

Ich habe schon betont, daß meine Versuche nicht darauf gerichtet

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

waren, die Beziehungen der äußeren Verhältnisse zu der Natur der Gärungsprodukte zu untersuchen, oder einen Beitrag zur Natur dieser Gärungsprodukte selbst zu liefern, sondern wollte lediglich die Variabilität derselben feststellen [1]).

Wenn nun auch die Abweichungen in der Menge und Zusammensetzung der gebildeten flüchtigen Säuren und Alkohole erhebliche sein können, so soll damit natürlich nicht gesagt sein, daß nicht die Bestimmung der Gärungsprodukte zum Zwecke der Speciesdiagnose von großem Wert ist, sie kann das jedoch nur dann sein, wenn die Variationen, denen diese Produkte unterworfen sein können, genügend erforscht und berücksichtigt werden.

Kapitel VI.

Kritische Literaturübersicht über die anaëroben, glykogenspeichernden, bisher als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien.

Die Literatur der zu dieser Gruppe gehörenden Bakterien ist eine sehr große, und ebenso groß ist die Verwirrung, welche infolge der teilweise recht oberflächlichen Untersuchung und Beschreibung der hierhin gehörenden Bakterienarten herrscht. Aus diesem Grunde ist die Zusammenstellung einer einigermaßen ausführlichen Literaturübersicht auch eine sehr schwierige Arbeit, zumal mit einer einfachen historischen Darstellung der Forschung nicht genützt ist. Ich habe mich bemüht, die in der Literatur zerstreuten Angaben zu sammeln und kritisch zu besprechen mit der Absicht, unter der Unzahl von „Species“ soweit wie möglich aufzuräumen. Zu diesem Zwecke habe ich versucht, die in der Literatur genannten Formen, die zum Teil als Erreger irgend besonderer, meist chemischer Wirkungen immer von neuem als neue Species beschrieben wurden, unter Berücksichtigung der mit unserem Bacillus amylobacter hinsichtlich der vorkommenden fluktuierenden Variation gemachten Erfahrungen nach den — oft höchst unvollkommenen — Beschreibungen zu ordnen

1) in bestimmt zu unserer Species Bac. amylobacter gehörende Formen (hierhin die, welche ich selbst in Händen hatte und die sich bei den vergleichenden Untersuchungen als Bac. amylobacter A. M. et Bred. erwiesen haben);

2) in wahrscheinlich zu unserer Species Bac. amylobacter zu ziehende Formen (hier will ich alle die Bakterienformen anführen, für welche wenigstens eine Anzahl von diagnostischen Merkmalen existiert, die für die Zugehörigkeit der Form zu unserer Spezies spricht, keines, welches dagegen spricht);

3) in vermutlich zu Bac. amylobacter gehörende Formen, die jedoch wegen völlig ungenügender Charakterisierung zu streichen sind;

4) in nach den bisherigen Kenntnissen wahrscheinlich nicht zum Bac. amylobacter gehörende Bakterienformen.

Das Ziel der Ausschaltung von ungenügend charakterisierten Species ist von Prof. Arthur Meyer und seinen Schülern im Marburger Botanischen Institute schon immer verfolgt worden, soweit es anging;

---

[1]) Der Wert solcher zu diagnostischen Zwecken dienenden Literaturangaben wie: „Der Fitzsche Bac. butyricus bildet auf 100 Teile Invertzucker 42,5 Teile Buttersäure, 0,5 Teile Butylalkohol und 0,3 g Milchsäure“, dürfte nach obenstehenden Ausführungen gekennzeichnet sein.

deshalb sind auch schon in den Arbeiten von Gottheil (1901) und Neide (1904) diejenigen „Species“, welche den im hiesigen Institute genau bearbeiteten ähnlich erschienen, angeführt worden, so daß es den Arbeitern auf diesem Gebiete erlaubt sein wird, diese „Species“ zu vernachlässigen. Der Zweck meiner Untersuchungen am Bac. asterosporus (1908) und am Bac. amylobacter war es ja nur, an zwei herausgegriffenen besonderen Fällen zu zeigen, wie das dort nur vorläufig ins Auge gefaßte Ziel erreicht werden kann.

Auf die Schwierigkeit der speziellen Beschreibung der anaëroben Arten machen auch Lehmann und Neumann (1907) aufmerksam: „Wir haben wohl zuerst 1896 den Standpunkt vertreten, daß eine Unterscheidung selbst der drei damals bekanntesten anaëroben Tetanus, Rauschbrand und malignes Oedem durch morphologische Mittel nicht möglich sei und gleichzeitig ausgesprochen, daß es dringend notwendig sei, die anaëroben, welche man bis dahin entweder nach medizinisch-morphologischen oder nach zymotechnisch-chemischen Methoden untersucht hatte, gleichzeitig nach beiden Methoden zu prüfen.“

Sie geben folgende, für unsere Zwecke ein wenig modifizierte Bestimmungstabelle der anaëroben Arten:

- I. Farbige Arten.
- II. Farblose Arten.
  - A. Pathogene Arten[1]).
    - 1) Bei Tieren in tiefe Hauttaschen gebracht, keine Lokalsymptome, sondern nur oder vorwiegend nervöse Symptome erregend.
      - α) Tetanus erzeugend. Bac. tetani Nicolaier.
      - β) Botulismussymptome erzeugend. Bac. botulinus v. Ermengem.
    - 2) Bei Tieren in tiefe Hauttaschen gebracht, lokales, blutiges, oft mit Gasblasen durchsetztes Oedem erzeugend. Meerschweinchen besonders empfänglich.
      - a) Eigenbewegung, sporenfest, schwer denaturierbar, mäßige Neigung zur Granuloseeinlagerung. Zuckerfreie Eiweißnährböden werden unter üblem Geruch gelöst, aus Traubenzucker und Rohrzucker Aethylalkohol, viel Milchsäure, wenig Buttersäure gebildet. Milchzucker nicht angegriffen, Milch amphoter koaguliert. In der Oedemflüssigkeit des lebenden Tieres Neigung, zu langen, gegliederten Fäden auszuwachsen. Pathogen für Kaninchen, Meerschweinchen zeigen meist gashaltiges Oedem. Bac. oedematis maligni (Koch) Flügge.
      - b) Eigenbewegung wechselnd, sehr leicht denaturierbar, zum Teil Granulose einlagernd, Eiweiß meist nicht angegriffen, aus Zucker viel Buttersäure bildend. Pathogenität sehr wechselnd. Bac. dimorphobutyricus (Grassberger und Schattenfroh) L. et N. Hiervon sind zurzeit drei ineinander überführbare Formen zu unterscheiden.
        - α) Typus I. Denaturiert, unbeweglich, geißellos, asporogen, Buttersäure aus Kohlenhydraten. Eiweißkörper nicht angegriffen. Hierher: Bac. phlegmonis emphysematosae E. Fränkel, Bac. saccharobutyricus immobilis Grassberger u. Schattenfroh. Viele denaturierte Formen des Bac. Chauvoei Aut. gallic.
        - β) Typus II. Nicht denaturiert, aber denaturierbar, beweglich, peritrich begeißelt. Sporen in Clostridium-Form, Granulose einlagernd, Eiweiß nicht verflüssigt. Hierhin die typische Form des Bac. Chauvoei.
        - γ) Typus III. Nicht denaturiert, aber denaturierbar, beweglich, peritrich begeißelte Köpfchensporangien. Eiweiß unter Gestank verflüssigt. Hierhin: Fäulnisform des Bac. dimorphobutyricus, Bac. paraputrificus Bienstock.
    - 3) Bei lebenden Tieren in Hauttaschen gebracht, ohne Symptome. Nicht denaturierbar.
      - a) Cellulose wird nicht angegriffen.
        - α) Sehr beweglich, große Neigung zur Granuloseeinlagerung und Clostridienbildung, peptonisiert Eiweiß nicht, vergärt Kohlenhydrate vorwiegend

---

[1] Die zu A „Pathogene Arten“ logischerweise zu erwartende Gruppe B „Nichtpathogene Arten“ müßte wohl vor die Unterabteilung 3 eingeschaltet werden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zu Buttersäure, daneben etwas Milchsäure, sehr selten Butylalkohol. Nicht denaturierbar. Bac. saccharobutyricus v. Klecki[1]).

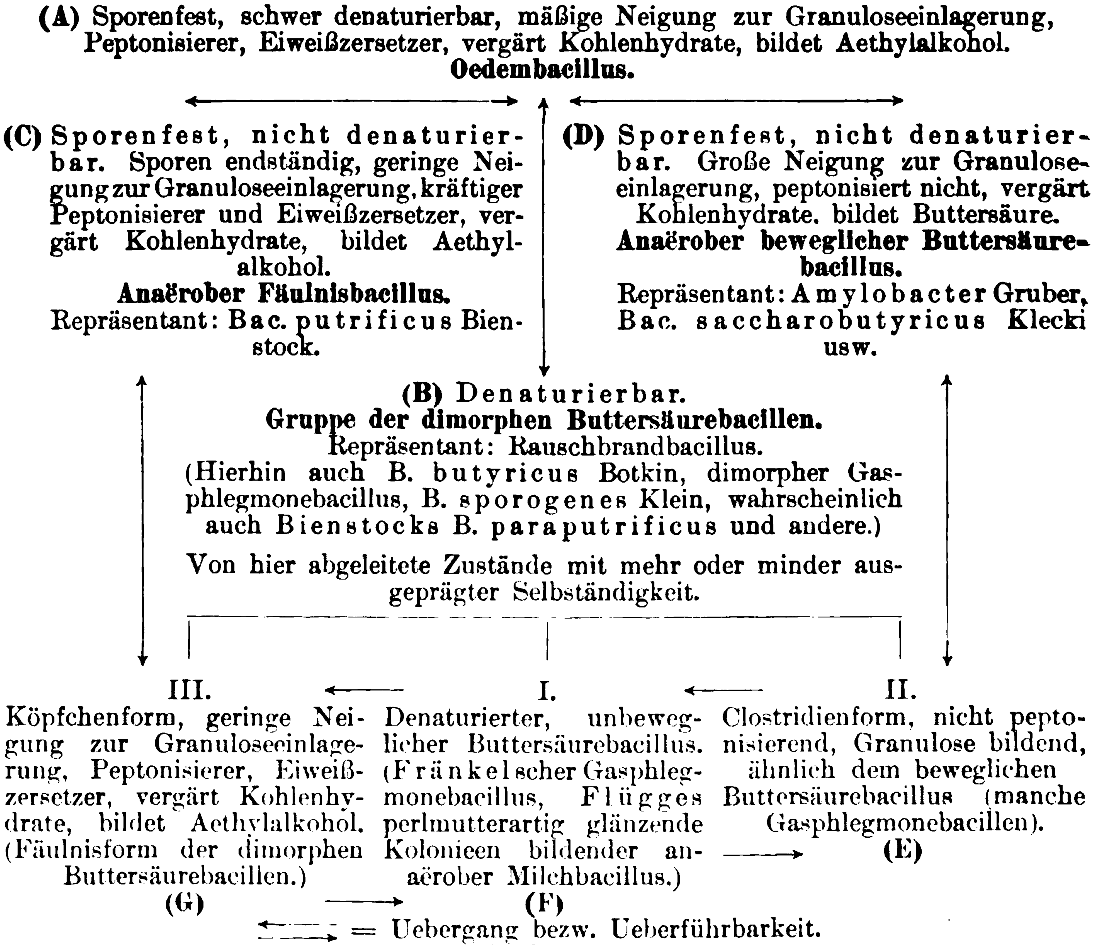
β) Beweglich. Wenig Neigung zur Granulosebildung, Gelatine und Eiweiß unter Gestank gelöst und verzehrt. Aus Kohlenhydraten wird Aethylalkohol, keine Buttersäure gebildet. Nicht denaturierbar. Bac. putrificus Bienstock.

b) Cellulose wird angegriffen und unter Gasbildung zerstört.

α) Bildung von Wasserstoff. Bac. fossicularum (Omelianski) L. et N.

β) Bildung von Grubengas. Bac. methanigens (Omelianski) L. et N.

Grassberger und Schattenfroh, denen wir sehr ausführliche Studien über die hierhin gehörenden Bakterien verdanken, geben folgenden Ueberblick über den Zusammenhang der von ihnen untersuchten Bakterien. Sie schreiben (1907. p. 70): „Die Skizze stellt gleichzeitig den Versuch vor, in einem Spezialfalle chemisch und morphologisch genau studierte Bakterien in ein System zu bringen, das nicht auf Grund von einzelnen in die Augen springenden morphologischen oder chemischen Eigenschaften der Bakterien aufgebaut ist, sondern die verwandtschaftlichen Beziehungen berücksichtigt, wie sie sich durch das Studium der Reaktionsbreite ergaben, in welcher die einzelnen untersuchten Arten auf verschiedene (z. B. denaturierende) Reize antworten. Wenn dabei die Abgrenzung der einzelnen Arten voneinander auch weniger scharf ist, als dies bei den meisten ebenso einfachen wie willkürlichen künstlichen Bakteriensystemen der Fall ist, so möge dieser Umstand doch andererseits die Hoffnung erwecken, daß wir uns hiermit wenigstens im engen Rahmen einem Systeme nähern, das auf Morphologie, Chemie und experimentell-biologische Methode aufgebaut ist.“



(A) Sporenfest, schwer denaturierbar, mäßige Neigung zur Granuloseeinlagerung, Peptonisierer, Eiweißzersetzer, vergärt Kohlenhydrate, bildet Aethylalkohol.
Oedembacillus.

(C) Sporenfest, nicht denaturierbar. Sporen endständig, geringe Neigung zur Granuloseeinlagerung, kräftiger Peptonisierer und Eiweißzersetzer, vergärt Kohlenhydrate, bildet Aethylalkohol.
Anaërober Fäulnisbacillus.
Repräsentant: Bac. putrificus Bienstock.

(D) Sporenfest, nicht denaturierbar. Große Neigung zur Granuloseeinlagerung, peptonisiert nicht, vergärt Kohlenhydrate, bildet Buttersäure.
Anaërober beweglicher Buttersäurebacillus.
Repräsentant: Amylobacter Gruber, Bac. saccharobutyricus Klecki usw.

(B) Denaturierbar.
Gruppe der dimorphen Buttersäurebacillen.
Repräsentant: Rauschbrandbacillus.
(Hierhin auch B. butyricus Botkin, dimorpher Gasphlegmonebacillus, B. sporogenes Klein, wahrscheinlich auch Bienstocks B. paraputrificus und andere.)
Von hier abgeleitete Zustände mit mehr oder minder ausgeprägter Selbständigkeit.

III. Köpfchenform, geringe Neigung zur Granuloseeinlagerung, Peptonisierer, Eiweißzersetzer, vergärt Kohlenhydrate, bildet Aethylalkohol. (Fäulnisform der dimorphen Buttersäurebacillen.) (G)

I. Denaturierter, unbeweglicher Buttersäurebacillus. (Fränkelscher Gasphlegmonebacillus, Flügges perlmutterartig glänzende Kolonieen bildender anaërober Milchbacillus.) (F)

II. Clostridienform, nicht peptonisierend, Granulose bildend, ähnlich dem beweglichen Buttersäurebacillus (manche Gasphlegmonebacillen). (E)

⇄ = Uebergang bezw. Ueberführbarkeit.
⟷ = Verwandtschaft.

---

[1]) Das wäre also die Gruppe, in die unsere Species Bac. amylobacter hineingehörte.

Betrachten wir, ehe wir zur Besprechung der einzelnen Arten übergehen, zunächst einmal die Angaben, die wir zur Unterscheidung der hierhin gehörenden Bakterienarten in der Literatur finden, auf ihren species-diagnostischen Wert hin.

1. Kritische Betrachtung der species-diagnostischen Angaben über die hierhin gehörenden Vertreter.

Die morphologischen Merkmale werden in der Literatur meist ganz kurz abgetan: Stäbchen von der und der Dicke, Sporen rundlich bezw. nicht vorhanden, Beweglichkeit schwach oder dergl. Duclaux (1895, p. 813) will das Hauptgewicht auf die physiologische Untersuchung gelegt wissen: „comme je l'ai souvent dit, la véritable diagnose doit être physiologique, non morphologique." Achalme (1902, p. 641) streitet der morphologischen Beschreibung der Anaëroben überhaupt jeden differential-diagnostischen Wert ab und gibt (s. Lehmann und Neumann 1907, p. 443) ein kompliziertes Schema zur biologischen Differenzierung durch das Verhalten der Anaëroben gegen Eiweißwürfel bei Anwesenheit verschiedener Kohlenhydrate.

In der Tat läßt ja die morphologische Beschreibung der hierhin gehörenden Vertreter auf eine außerordentlich große Aehnlichkeit aller dieser untereinander schließen. Mit den in der Literatur gemachten Angaben über die Form und Größe der Oidien ist meines Erachtens gar nichts anzufangen, abgerundete Ecken haben alle Oidien, und die Angaben über Dicke und Länge sind deshalb meist wertlos, weil Angaben über den zur Kultur benutzten Nährboden fehlen. Wie die Größe übrigens selbst bei Benutzung ein und desselben Nährbodens schwanken kann, haben meine Untersuchungen am Bac. amylobacter gezeigt, es kamen (s. p. 436) auf D-Agar Stäbchen von 0,6—1,4 μ Dicke vor, und zwar in völlig gesunden Kulturen. Auch mit den Angaben über die Sporangien ist nicht viel anzufangen. Man unterscheidet in der Literatur ja meist Clostridienform (mittelständige Sporen, bauchige Auftreibung des Sporangiums) und Paraplectrum- bezw. Plectridium-Form (Sporen endständig, sogenannte Köpfchensporangien). Diese sich zum Zwecke der Speciesdiagnose findenden Angaben sind immer sehr mit Vorsicht aufzunehmen; wir wissen, daß beide Formen sehr wohl bei ein und derselben Species vorkommen[1]) (s. p. 437 und Taf. I, Fig. 41

---

[1]) Störmer (1904, p. 178) unterscheidet bei seinen Untersuchungen über die Rösteerreger scharf zwischen „Clostridien" und „Plectridien". Er gibt an, daß sich in Nährlösungen, die ausschließlich Hexosen oder Hexosenabkömmlinge, wie Stärke oder Dextrin, enthielten, fast ausschließlich „Clostridien", in Nährlösungen, die mit Arabinose oder Pektinkörpern hergestellt waren, durchaus vorherrschend „Plectridien" entwickelten. „Hier ergibt sich auch eine einfache Erklärung für die von Behrens gemachte Beobachtung, daß sein — aus Hanf isolierter — Rösteerreger dem Flachs gegenüber sehr träge war, denn da dieser Rösteerreger ein Clostridium ist, kann er . . . . nur Hexosen, nicht Pentosen vergären. Der von Behrens benutzte und untersuchte Hanf enthielt auffälligerweise nur Pektinsubstanzen, in denen die Pentosegruppe fehlte. Zufolge dieses Umstandes mußte Prof. Behrens daher bei seinen Anreicherungsverfahren zu einem Clostridium gelangen."

Nach den Beschreibungen, die Störmer von seinem Plectridium pectinovorum genannten Rösteerreger gibt, ist es nicht unmöglich, daß dieser Organismus auch mit unserem Bac. amylobacter identisch ist (s. unten). Jedenfalls halte ich eine solch scharfe Trennung in Plectridien und Clostridien, welche Formen ja beide nebeneinander bei ein und derselben Species vorkommen, nicht für berechtigt. Wie es allerdings kommt, daß Störmer bei Ernährung mit Arabinose immer ausgeprägte Plectridium-Form erhielt, vermag ich nicht zu sagen, bei meinen Versuchen, die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bis 74). Allerdings wird bei einer Species **unter bestimmten Verhältnissen** die eine, bei anderen die andere Form **vorherrschend** sein, für unseren Bac. **amylobacter** ist unter allen beobachteten Verhältnissen (D-Agar, N-freie Nährlösung, Bouillon etc., verschiedene Temperatur, verschiedener Sauerstoffdruck etc.) die Spindelform mit mittelständiger oder auch endständiger Stellung der Spore die „typische" bezw. häufigste Form der Sporangien; ausgesprochene Köpfchensporangien, d. h. trommelschlägerförmige Gebilde, wie dieselben für den Bac. putrificus Bienstock als „typisch" beschrieben werden, sind im allgemeinen beim Bac. amylobacter selten, doch kommen, wie ich mich selbst wiederholt überzeugte, auch beim Bac. putrificus häufig ausgesprochene spindelförmige Sporangien vor.

Das Freiwerden der Spore aus dem Sporangium und die bleibende Sporangienmembran, die sogenannte „Sporenkapsel", welch letztere immer als besonderes Merkmal des Winogradskyschen „Clostridium Pasteurianum" angesehen wurde, hat auch nicht den speciesdiagnostischen Wert, den man ihr beizulegen pflegte. Aehnliche Kapseln wurden auch schon von anderen Autoren an anderen „Species" beobachtet (s. p. 438)[1], und meine Untersuchungen an den verschiedenen Stämmen unseres Bac. amylobacter zeigten, daß bei dieser Species auch die Neigung zum Beibehalten dieser Sporangienmembranreste eine variable Größe ist, die bisweilen von nicht erkennbaren Umständen, oft aber auch vom Nährboden beeinflußt wird. Diese Neigung zur längeren Erhaltung des die Spore berührenden Teiles der Sporangienmembran zeigte, wie ich mich überzeugte, nicht nur unser Bac. amylobacter, sondern auch der Bac. putrificus Bienstock und andere ihm nahestehenden Fäulniserreger, welche ich in Händen hatte, aber leider nicht mit zu meinen vergleichenden Untersuchungen heranziehen konnte, wie z. B. der Bac. paraputrificus Bienstock und die Rodellaschen beiden Käsebacillen Stamm A und B (1906), auch beim Bac. botulinus van Ermengem und bei zwei von Prof. Grassberger erhaltenen „dimorphen Buttersäurebacillen" beobachtete ich dieselbe Eigentümlichkeit in genau der gleichen Weise ausgeprägt.

Es ist ja selbstverständlich, daß das Vorkommen dieser Erscheinung als Speciesmerkmale gebraucht werden kann, nur muß man sich klar sein, daß diese Erscheinung bei einer Species, welche sie in typischer Weise zeigt, unter Umständen fehlen kann.

Was die Sporen anbelangt, so scheint die Größe der Sporen ein gutes Speciesdiagnostikum zu sein. Meine sehr eingehenden Untersuchungen am Bac. amylobacter haben gezeigt (vergl. p. 424/430), daß die Sporengröße bei den verschiedenen Stämmen eine ziemlich konstante Eigenschaft ist, vorausgesetzt natürlich, daß die Stämme alle unter gleichen Bedingungen kultiviert wurden. Die in der Literatur sich findenden Angaben über die Sporengröße der verschiedenen „Species" sind zum größten Teil wieder deshalb unbrauchbar, weil die Kulturbedingungen, unter denen sie entstanden sind, nicht angegeben werden. Vergl. die auf p. 430—431 gegebene Zusammenstellung der in der Literatur sich findenden Angaben über die Sporengröße einiger Arten, welche ich

---

ich mit den verschiedensten Erden anstellte, war eine solche Beeinflussung der äußeren Form der Sporangien durch Arabinose niemals zu beobachten (s. p. 401).

[1] Außer den dort genannten beobachtete auch Flügge (1904) bei seinem Anaërobier III, daß die Spore „von einer starken Protoplasmahülle umgeben bleibt".

als mit dem Bac. amylobacter identisch fand und über einige wahrscheinlich auch mit zu unserer Species gehörenden Arten.

Was die Form der Sporen anbelangt, so ist auch diese wenigstens bei unserer äußerst variablen Species Bac. amylobacter eine sehr verschiedene (vergl. p. 423 und Taf. I, Fig. 1—20), selbst auf demselben Nährboden (D-Agar) finden sich zylindrisch-walzenförmige bis kugelrunde Sporen vor; immerhin ist zu beachten, daß diese Eigenschaft mit Berücksichtigung der Variationsgröße selbstverständlich als speciesdiagnostisches Mittel benutzt werden kann. Die Angaben, die sich über die Sporenbildungsfähigkeit bezw. -unfähigkeit in der Literatur finden, sind deshalb als speciesdiagnostisches Mittel nicht ohne weiteres brauchbar, weil es nicht leicht ist und häufig nur durch besondere Verfahren — Klein (1895/99), Grassberger und Schattenfroh (1900, 1907), Albrecht (1902), Passini (1906) — gelingt, diejenigen Stämme, die ihr Sporenbildungsvermögen verloren haben, wieder zur Sporenbildung zu bringen; es müßte also immer dieser Versuch gemacht sein.

Grassberger und Schattenfroh (s. Schema p. 158) legen bei der Gruppierung ihres Verwandtschaftssystems den Hauptwert mit auf die „Denaturierbarkeit“ bezw. „Nichtdenaturierbarkeit“.

Denaturierung nennen sie den Vorgang, „der (1907 p. 46) mit der Anpassung an die künstlichen Nährböden (insbesondere solche feste Nährböden, denen Zucker zugesetzt wurde) zu einer beträchtlichen Zunahme der Dicke der Stäbchen, zum Verluste der Beweglichkeit und Sporulation führt“. Nach ihnen ist die Gruppe D „Anaërober beweglicher Buttersäurebacillus“, als dessen Repräsentant sie den Amylobacter Gruber und den Bac. saccharobutyricus v. Klecki bezeichnen, die ich beide in Händen hatte und mit unserem Bac. amylobacter identisch fand, nicht denaturierbar. Demgegenüber muß ich betonen, daß gerade der Bac. saccharobutyricus v. Klecki beim Erhalt asporogen war, allerdings machte die ganze Kultur einen stark abgeschwächten Eindruck, die unbeweglichen Oidien waren lang, dünn, fädig, es hatte hier also nicht, wie Grassberger und Schattenfroh das als typisch bezeichnen, mit dem Verluste der Sporenbildung und Beweglichkeit eine Zunahme der Dicke¹) der Stäbe stattgefunden, dagegen machte der Stamm Aα („Clostridium Pasteurianum“), wenn er abgeschwächt war, durchaus den Eindruck einer völlig gesunden, aber asporogenen Kultur. Also die Sporenfestigkeit ist nach meinen Befunden durchaus kein Kennzeichen der „anaëroben beweglichen Buttersäurebakterien“.

Die Art der Keimung der Sporen ist nur bei wenigen der hierhin gehörenden Sorten beschrieben, wo sie bekannt ist, ist sie, soviel ich weiß, stets polar.

Die Beweglichkeit der Oidien und Sporangien ist wohl eins der schlechtesten diagnostischen Merkmale. Wir wissen, wie labil diese Eigenschaft ist und wie sie von allen möglichen äußeren und inneren Einflüssen abhängt; wir haben gesehen, daß auch ganz unbewegliche asporogene Stämme unseres Bac. amylobacter wieder in lebhaft bewegliche übergeführt werden können. Die ganze Situation wird beleuchtet durch eine Bemerkung, die Winogradsky hinsichtlich seines, von ihm doch sicherlich sehr eingehend untersuchten „Clostridium Pasteu-

---

1) Wodurch die eigentümliche Erscheinung entstanden ist, daß die Stäbe immer dick geworden sind, läßt sich nicht sagen, denn solche Erscheinung könnte durch sehr mannigfache Verhältnisse — Sauerstoffspannung etc. — hervorgerufen sein; man hat darüber kein Urteil.

rianum“ macht, die Schwärmfähigkeit desselben sei „ein noch nicht ganz aufgeklärter Punkt“; die Kultur des Winogradskyschen Bacillus stellte sich bei meinen Versuchen als äußerst beweglich heraus.

Was die Reservestoffe anbelangt, so werden einige, nach ihrer sonstigen Beschreibung zu urteilen, vermutlich auch hierhin gehörende Formen deshalb als „neue“ bezw. selbständige „Species“ angesehen, weil sie mit Jod angeblich keine Blau- bezw. Braunfärbung geben. Die Angaben über die Art des versuchten Nachweises einer Glykogen- bezw. Iogenfärbung sind meist zu unvollkommen, um die Angaben über einen negativen Befund als bindend anzusehen. Es fragt sich einmal, sind die Reaktionen mikroskopisch oder nur makroskopisch angestellt, und ferner, wie waren die Ernährungsbedingungen, denn wir kennen ja die Veränderlichkeit der Reservestoffspeicherung bei unserem Bac. amylobacter (s. p. 443).

Den vorhandenen Angaben über die Färbbarkeit des Bac. amylobacter nach Gram etc. lege ich überhaupt keinen speciesdiagnostischen Wert bei, weder für unsere Species noch für andere; vergl. auch die kritische Besprechung der Methoden der Bakterienfärbung von Grimme (1902) und die Untersuchungen über die Gram-Färbbarkeit von Neide (1903).

Auch den Angaben über die Wuchsformen der Bakterienkolonieen auf Agar, Gelatine und anderen festen Nährböden inkonstanter Zusammensetzung vermag ich keinen speciesdiagnostischen Wert zuzuerkennen; vergl. auch die kritischen Ausführungen über „den Wert der für die Bestimmung der Arten der Bakterien benutzten Merkmale“ von Gottheil (1901 p. 4) und Neide (1904 p. 7).

Wie wenig bindend auch die Angaben über die Verflüssigung bezw. Nichtverflüssigung der Gelatine sind, ist bereits früher (p. 465) besprochen. Die mit unserem Bac. amylobacter identischen Stämme „Granulobacter butylicum“ Beijerinck; „Gran. pectinovorum“ Beijerinck et van Delden und „Bac. amylobacter I“ Gruber (= Bac. butylicus Migulas), welche, nach den Literaturangaben zu urteilen (Beijerinck und van Delden, Migula), die Gelatine verflüssigen sollen, verflüssigten bei meinen Versuchen niemals. Allerdings muß ich nochmals bemerken, daß ich diese Versuche nur mit Gelatinegallerte hochprozentiger Zusammensetzung angestellt habe.

Die Angaben über die Abtötungszeit der Sporen bei 80° und 100° C sind ziemlich unbestimmt gehalten, die meisten der hierhin gehörenden Formen scheinen von nicht sehr großer Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen zu sein. Eingehendere Untersuchungen stellte neuerdings v. Hibler (1908) an; bei Besprechung der einzelnen Arten wird unten auf dieselben zurückgekommen werden.

Ueber die von mir außerdem noch benutzten Methoden zum Vergleich der in Händen befindlichen Stämme untereinander, als da sind: Bestimmung des Minimums, Maximums und Optimums der Temperatur und der Sauerstoffspannung, Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Sauerstoffspannung, vergleichende Entwickelung auf verschiedenen Nährböden, Schnelligkeit der Entwickelung von Spore zu Spore auf diesen finden sich meist sehr dürftige Angaben in der Literatur, die meisten der hierhin gehörenden Formen werden als streng anaërob beschrieben, einige auch als weniger streng anaërob angesehen; exakte Bestimmungen fehlen stets.

Der Wert der Angaben über die Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen ist schon p. 467 besprochen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

worden. Ich habe dort schon gezeigt, daß die Angaben nur unter Berücksichtigung aller Verhältnisse als Speciesdiagnostikum benutzt werden können. Bei dieser Gelegenheit sei noch ein anderer dunkler Punkt in der Geschichte des Bac. amylobacter erwähnt, nämlich seine Eigenschaft als Cellulosezerstörer und als Erreger der Röste der Gespinstfasern. Die von van Tieghem eingeführte Auffassung seines Bac. amylobacter als „Ferment der Cellulose“, unter welcher Bezeichnung sich derselbe immer noch in vielen Lehrbüchern findet[1], dürfte nach den neuesten Untersuchungen endgültig als unrichtig nachgewiesen sein [Omelianski 1902, hier auch ausführliche Literatur[2]]. Anders verhält es sich mit der Eigenschaft des Bac. amylobacter als der Erreger oder doch einer der Erreger der Röste der Gespinstfasern. Nach den Untersuchungen von Behrens (1902), in dessen Arbeit sich auch eine ausführliche Literaturübersicht findet, sowie nach den Untersuchungen von Fribes (1895), Störmer (1904) und Beijerinck und van Delden (1906) dürfte es wohl feststehen, daß der Bac. amylobacter tatsächlich ein Rösteerreger ist. Alle diese Autoren isolierten als Erreger der Röste „Clostridien“, „Granulobacter“, „Plectridien“ usw., welche vermutlich mit unserem Bac. amylobacter identisch sind. Die Originalkultur des Beijerinck und van Deldenschen Rösteerregers des Flachses, den „Granulobacter pectinovorum“ hatte ich in Händen und habe denselben, wie gesagt, nach genügend lange fortgesetzter Kultur als mit dem Bac. amylobacter völlig übereinstimmend gefunden. Beijerinck und van Delden züchteten allerdings aus röstendem Materiale auf ein und derselben Platte 4 von ihnen für verschieden angesehene Arten, die Granulobacter pectinovorum, urocephalum, saccharobutyricum und butylicum, „seules les deux premières espèces, Gran. pectinovorum et Gran. urocephalum, sont de véritables bactéries du rouissage; la première est très active, la seconde l'est beaucoup moins. Les deux autres espèces, les ferments butyrique (Gran. saccharobutyricum) et butylique (Gran. butylicum) ne rouissent pas du tout.“ Außer dem „Gran. pectinovorum“ habe ich auch den Gran. butylicum in Händen gehabt und habe absolut keinen Unterschied zwischen diesen beiden finden können. Auch die Unterschiede, die Beijerinck und van Delden zwischen ihren Gran. pectinovorum und Gran. urocephalum angeben: verschiedene Formen der Sporangien, stärkere Pectosinasebildung durch Gran. urocephalum, verschieden anspruchsvolles Verhalten gegen N-Nahrung etc. scheint mir nicht das Aufstellen zweier verschiedener Species zu berechtigen, denn ähnlich ausgeprägte Verschiedenheiten haben wir auch bei unseren Stämmen beobachtet, Verschiedenheiten, die jedoch bei länger fortgesetzter Kultur mehr und mehr verschwanden, oder inkonstanter wurden, so daß die Vermutung, daß es sich bei den Beijerinck- und van Deldenschen Formen ebenso verhalte, wohl naheliegt; von zweien der vier auseinander gehaltenen Formen habe ich ja auch den Nachweis erbracht, daß sie sich durch längere Zeit hindurch gleichmäßig fortgesetzte Züchtung vollständig „ineinander überführen“ lassen. Wenn Beijerinck auch gefunden hat, daß sich seine Formen gegenüber N-Nahrung verschieden anspruchsvoll verhielten, oder daß die einen „Pectose“ angriffen, die anderen nicht, so ist dieses Verhalten wohl durchaus vergleichbar mit dem der verschiedenen Stämme unseres Bac. amylobacter, die sich auch gegenüber verschiedener N-Nahrung und vorzüglich gegenüber verschiedenen C-Quellen sehr verschieden anspruchsvoll verhielten, wobei sogar ein und derselbe Stamm bei verschiedenen Versuchen unter soweit wie möglich gleichen Verhältnissen sich verschieden verhielt. Ob der „Gran. pectinovorum“ jetzt auch noch imstande ist, „Pectose“ [1]) anzugreifen, vermag ich nicht zu sagen, es ist nicht unmöglich, daß auch diese Eigenschaft eine variable ist. Bemerkenswert ist, daß die geschwächte Form, wie wir sie erhielten (s. p. 404—408), auf Kartoffeln breiige Erweichung des Nährbodens, d. h. eine Lösung der Mittellamellensubstanz, hervorrief, daß sie aber jetzt, nachdem sie durch häufiges Umimpfen auf diesem Nährboden gekräftigt und dann auf D-Agar zurückgebracht und auf diesem eine Zeitlang fortkultiviert war, beim erneuten Uebertragen auf Kartoffel wohl kräftige Gärung, aber ebensowenig, wie die übrigen Stämme eine Erweichung des Nährbodens hervorrief. Es zeigt dies Verhalten, daß die Fähigkeit, „Pectose“ anzugreifen, ähnlich labil ist, wie z. B. das Stickstoffbindevermögen. Die Fähigkeit, „Pectose“ anzugreifen, steht wahrscheinlich im Zusammenhange mit der Bildung von Enzymen, und bekanntermaßen ist gerade die Enzymbildung eine labile Eigenschaft der Species und nicht geeignet, ohne weiteres ein speciesdiagnostisches Merkmal abzugeben. Außerdem kommt noch hinzu, daß die Wirksamkeit der Enzyme von verschiedenen Verhältnissen abhängig ist.

---

[1] Selbst in solchen neuester Auflage, wie z. B. Röttger: Nahrungsmittelchemie. 3. Aufl. 1907.

[2] S. a. Literatur über Cellulosegärung und Röste bei Emmerling. Braunschweig 1902.

Das Behrenssche „Clostridium der Wasserröste des Hanfes“ ist vermutlich auch identisch mit unserem Bac. amylobacter, so erklärte sich auch das regelmäßige Vorkommen dieses Organismus. Ueber den wahrscheinlich auch zum B. amylobacter gehörenden Störmerschen Rösteerreger des Flachses das „Plectridium pectinovorum“ siehe p. 543 Anmerkung.

Außer den letztgenannten Punkten: verschiedenes Verhalten gegen die verschiedenen C-Quellen und gegen die Mittellamellensubstanzen hat wohl die verschiedene

Natur der Gärungsprodukte, welche durch die dem Bac. amylobacter morphologisch sehr ähnlichen Bakterien gebildet werden, mit die hauptsächlichste Veranlassung zur Aufstellung der vielen „verschiedenen Species“ gegeben. Sehr schöne Untersuchungen über die Variabilität der Gärungsprodukte der hierhin gehörenden Bakterien verdanken wir Grassberger und Schattenfroh. Ueber die große Variabilität in der Natur der durch unsere Species und zwar durch stets gleichartig behandelte gleichmäßig „kräftige“ Stämme gebildeten Gärungsprodukte ist im Kapitel V p. 526 berichtet worden. Soweit Untersuchungen vorliegen, scheinen alle hierhin gehörenden Vertreter bei der Gärung neben CO^2 und H Buttersäure zu bilden, außer dieser ist noch das Vorkommen anderer flüchtigen Säuren, Propionsäure, Essigsäure, Ameisensäure, mit mehr oder minder großer Genauigkeit festgestellt worden, an nicht flüchtigen Säuren entsteht Milchsäure, aber in sehr schwankender und von der Kultur und Beschaffenheit des Stammes abhängiger Menge. An Alkoholen sind vorzüglich Butyl- und Propylalkohol gefunden, außerdem noch eine Reihe anderer (siehe p. 534). Ueber das

---

[1]) Ueber die Begriffe „Pectinsubstanzen“ siehe ausführliche Uebersicht bei Arth. Meyer: Erstes mikroskopisches Praktikum. Jena (Gustav Fischer) 1907. 2. Aufl. p. 38; ferner J. Behrens, Lafars Handb. d. techn. Mykologie III. p. 269.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Verhältnis der Mengen der verschiedenen Säuren und Alkohole zueinander, welche unter verschiedenen Bedingungen gebildet werden, und über das gegenseitige Verhältnis von Säuren zu Alkohol sind wiederholt eingehende Versuche angestellt worden, indem man mit peinlicher Genauigkeit die Gärungsprodukte quantitativ analysierte, meist ohne aber die stets vorhandene Variation zu berücksichtigen, weshalb es auch leicht erklärlich ist, weshalb die verschiedenen Analytiker zu verschiedenen sehr häufig widersprechenden Ergebnissen gelangten (siehe p. 537).

Es ist daher mit den Literaturangaben, welche Gärungsprodukte die verschiedenen ähnlichen Formen erzeugten, zum Zwecke des Vergleiches derselben untereinander nicht viel zu machen. Nur eine Angabe erscheint mir für diese Zwecke besonders wertvoll, das ist die Angabe darüber, ob einer dieser Formen die Fähigkeit zukommt, Eiweiß weitgehend anzugreifen.

Sämtliche 27 Stämme unseres Bac. amylobacter erzeugten aus Eiweiß und Pepton keine übelriechenden Produkte. Sie stehen somit im direkten Gegensatz zu dem „typischen Fäulniserreger“, dem Bac. putrificus Bienstock und diesen nahestehenden Arten, die in fast allen ihren sonstigen Eigenschaften unserem Bac. amylobacter sehr ähneln.

Grassberger und Schattenfroh stellen, wie aus der Skizze p. 542 hervorgeht, den Bienstockschen Bacillus und den „beweglichen Buttersäurebacillus“ auch als zwei scharf getrennte Typen einander gegenüber, machen aber gleichzeitig auf die von ihnen beobachtete Tatsache aufmerksam, daß es zwischen beiden Uebergänge gibt, das ist ihre Gruppe der „dimorphen Buttersäurebacillen (Gruppe B), die durch Zustand III (Fäulniserreger) mit dem Bienstockschen Bacillus, durch Zustand II (Clostridienform) mit dem beweglichen Buttersäurebacillus zusammenhängt“. An dem unserem Bac. amylobacter morphologisch sehr ähnlichen Rauschbrandbacillus beobachteten sie die außerordentlich interessante Erscheinung, daß derselbe je nach den Kulturbedingungen in drei verschiedenen „Zuständen“ wächst, einmal im Zustand des „beweglichen Buttersäurebacillus“ mit allen seinen Eigentümlichkeiten, dann im Zustande des „unbeweglichen Buttersäurebacillus“ und endlich im „fäulniserregenden Zustande“. Letzterer Zustand wurde am zweckmäßigsten dadurch erreicht, daß sie möglichst originäre Kolonieen auf Nährböden übertrugen, die keinen Zucker, dagegen leicht angreifbares Eiweiß enthielten. Interessant ist auch, daß in solchen Kulturen insbesondere bei wiederholter Uebertragung von Sporen enthaltendem Materiale auf neue gleichartige Nährböden oft vorwiegend die „typische“ Form des Bienstockschen Bacillus entstanden: ausgesprochene endständige Versporung und geringe Glykogeneinlagerung. Ein ganz ähnliches Verhalten zeigte auch ihr Typus „unbeweglicher Buttersäurebacillus“, von dem ich einen Vertreter (Stamm G) in Händen hatte und nach genügender Vorkultivierung als mit unserem Bac. amylobacter identisch befand. Im asporogenen denaturierten Zustande veränderte dieser unbewegliche Buttersäurebacillus Schattenfroh und Grassbergers Eiweißstoffe kaum, bildete aus Zucker Milchsäure, Buttersäure, Kohlensäure und Wasserstoff, brachte in Milch das Kasein klumpig zur Ausscheidung und vergor einen Teil des Milchzuckers zu Buttersäure und Milchsäure, im sporenbildenden Zustande, in den er durch Kultivierung auf Ei-Nährboden leicht zu verwandeln war, war das Zersetzungsvermögen ein völlig verändertes und zeigte „ganz ähnliche Verhältnisse, wie jenes der streng anaëroben Fäulnisbakterien“. Diese „Fäulnisform“ unterschied sich in morphologischer Hinsicht vom Bienstockschen Bac. putrificus nur dadurch, daß sie stets mehr oder minder leicht denaturierbar war, während „sich der echte Bienstocksche Bacillus gegenüber den denaturierenden Einflüssen vollkommen refraktär verhält“, welche Unterschiede meines Erachtens als diagnostische Kennzeichen keine große Bedeutung haben, denn es wird auch hier darauf ankommen, wie lange ein Stamm, wie z. B. der Bienstocksche, sich bereits in Kultur befindet, und ferner kommen ja auch bei jeder Species kräftige und minder kräftige Individuen bezw. Stämme vor. Diese äußerst interessanten Beobachtungen der verdienstvollen Wiener Forscher zeigen, daß auch mit den Angaben in der Literatur über die Fäulniserregung bezw. Nichtangreifbarkeit gegenüber Eiweiß der dort beschriebenen „Species“ nicht immer ohne weiteres viel anzufangen ist. Die fäulniserregenden Formen sind ja zum Teil bezüglich ihrer Morphologie und Physiologie noch wenig genau untersucht. Wenn sich bei denselben keine Abweichungen vom Bac. amylobacter zeigen sollten, und wenn es gelingen sollte, diesen zur weitgehenden Eiweißzersetzung umzuzüchten und andererseits dem Bienstockschen Bacillus die Fähigkeit, Eiweiß zu zersetzen zu nehmen, also die erste in die zweite und die zweite in die erste Form zu verwandeln, was vielleicht, da sich die meisten der Stämme schon sehr lange in Kultur befinden, nicht leicht sein wird, so würde ich keinen Anstand nehmen, diese für identisch zu erklären. Ich hoffe, die Versuche in Kürze ausführen zu können. Erwähnt sei an dieser Stelle schon jetzt, daß die Stämme Bac. putrificus (erhalten von Dr. Moro), Bac. putrificus (erhalten von Prof. Grassberger), Bac. botulinus (Original Ermengem), Käsebacillus B Rodella und ferner zwei, allerdings ja nicht direkt zu den Fäulniserregern zählende „dimorphe Buttersäurebacillen“ von Prof. Grassberger durch Erdpassage zu einer kräftigen Gärung in Winogradskyscher Nährlösung zu bringen waren. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß eine systematisch durchgeführte Untersuchung dieser „Fäulniserreger“ untereinander und mit dem ihm so nahestehenden Bac. amylobacter zu neuen und interessanten Resultaten führen wird. Das unzweifelhafte Verdienst Grassberger und Schattenfrohs ist es, durch mühevolle Untersuchungen die nahe Verwandtschaft der in Rede stehenden Bakterien, ihre weitgehende Variation und teilweise Ueberführbarkeit ineinander genügend erforscht zu haben, und zwar an solchen Generationen, „die dem natürlichen Zustande sehr nahestehen und den künstlichen Züchtungsbedingungen noch nicht durch generationsweise fortgesetzte Züchtung auf Laboratoriumsnährböden völlig angepaßt sind“.

Was endlich noch die als Speciesdiagnostikum benutzte Pathogenität anbelangt, so möchte ich — als Nichtmediziner — dieses Merkmal hier nicht kritisch besprechen und nur kurz streifen. Der leicht eintretende Verlust der Virulenz ist ja bekannt und ebenso, daß auch sie wie manche andere Eigenschaft, durch geeignete Kultur regeneriert werden kann.

Damit will ich nicht gesagt haben, daß z. B. die Formen Bac. botulinus van Ermengem, Bac. cadaveris sporogenes Klein, Bac. oedematidis maligni Koch, die ja mit unserem Bac. amylobacter gewisse Aehnlichkeiten haben, mit ihm identisch sind, während das für andere, wie z. B. den Gasphlegmonebacillus, nicht ohne weiteres als unmöglich betrachtet werden kann.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

2. Spezielle kritische Besprechung der anaëroben glykogenspeichernden, bisher als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien.

1) Nach meinen Untersuchungen bestimmt zur Species Bac. amylobacter A. M. et Bred. gehörende Formen.

1) Clostridium Pasteurianum Winogradsky (1895).
2) „ americanum Pringsheim (1906/08).
3) „ α Haselhoff et Bredemann (1906).
4) „ β „ „ „ (1906).
5) Bacillus amylobacter I Gruber (1887).
6) „ saccharobutyricus v. Klecki (1896).
7) Granulobacter butylicum Beijerinck (1896).
8) „ pectinovorum Beijerinck et van Delden (1906).
9) Bacillus aus altem und
10) Bacillus aus jungem Schabziegerkäse v. Freudenreich und Jensen (1906).
11) Ein als „Gasphlegmonebacillus“ bezeichneter Stamm.

2) Wahrscheinlich zu unserer Species Bac. amylobacter zu ziehende Formen (hier finden sich diejenigen Formen angeführt, für die wenigstens eine Anzahl von diagnostischen Merkmalen vorhanden ist, die für die Zugehörigkeit der Form zu unserer Species sprechen, keines, welches dagegen spricht).

1) Clostridium butyricum Prażmowski.
2) Butylbacillus E. Buchner.
3) Bacillus amylobacter II Gruber.
4) „ amylocyme Perdrix.
5) Granulobacter saccharobutyricum Beijerinck.
6) „ lactobutyricum Beijerinck.
7) Bacillus orthobutyricus Grimbert.
8) Beweglicher Buttersäurebacillus Grassberger u. Schattenfroh.
9) Bacillus lactopropylbutyricus non liquefaciens Tissier und Gasching.
10) Clostridium der Hanfröste von Behrens.
11) Plectridium pectinovorum Störmer.
12) Clostridium giganteum Keutner.
13—14) N-assimilierende Clostridien δ und ε Haselhoff und Bredemann.
15) Granulobacter urocephalum Beijerinck und van Delden.
16) Schardingers Alkohol bildendes Clostridium.
17) Rodellas Clostridium von Leguminosenknöllchen.
18) v. Hiblers Art VIII.

1. Clostridium butyricum Prazmowski (1879, 1880).

„Buttersäureferment (Vibrion butyrique Pasteur, Amylobacter, Clostridium, Urocephalum Trécul, Bac. amylobacter v. Tiegh., Bact. navicula Reinke und Berthold).“ Die gute morphologische Beschreibung der Sporenkeimung, Oidien, Sporangien, Entstehung der Sporen, Sporen, Sporentötungszeit, Glykogenreaktion, Buttersäurebildung, Anaërobiose paßt auf unseren Bac. amylobacter.

2. Butylbacillus E. Buchner (1885).

Von Buchner isoliert aus mit Glyzerin versetztem gärenden Heuwaschwasser. Soll „in jungen und alten Kulturen“ niemals mit Jod Blaufärbung geben, Sporangien meist stecknadelförmig mit endständigen Sporen, bisweilen keulenförmig. Aus Glyzerin, Rohrzucker und Stärke bildete er Butylalkohol, aus Calciumlaktat Butylalkohol und Buttersäure. Nach Buchner ließen sich „die wenigen Abweichungen (von den Pasteurschen, Prażmowskischen und Fitzschen Bacillen) einerseits durch verschiedene Ernährungsmodifikationen, andererseits dadurch erklären, daß nicht von allen Forschern völlig reines Pilzmaterial benutzt wurde, hierdurch lassen sich z. B. die Blaufärbungen einiger weniger Zellen, wie sie Prażmowski und Fitz bei Behandlung mit Jod manchmal erhalten haben, die ich aber nie beobachten konnte, verstehen“.

Diesen selben Bacillus verwendeten E. Buchner und J. Meisenheim (1908) zu ihren Untersuchungen über die Buttersäuregärung. Er wird dort als fakultativ anaërob bezeichnet (vielleicht, weil im offenen Kolben gärend?). Bei Vergärung von Glyzerin oder Glukose in anorganischer Nährlösung mit Ammoniumsulfat bildete er normalen Butylalkohol, Aetylalkohol, normale Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure, CO^2 und H.

Dank der Liebenswürdigkeit der Herren Prof. E. Buchner und Prof. J. Meisenheimer hatte ich diesen Stamm in Händen. Ich erhielt ihn, nachdem meine experimentellen Untersuchungen bereits zum größten Teile abgeschlossen waren und konnte ihn zu diesen leider nicht mehr heranziehen. Wie bereits p. 402 erwähnt, läßt es mir die — allerdings nur vorläufig angestellte — morphologische Untersuchung als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß auch diese Art mit unserem Bac. amylobacter identisch ist.

Bei meinen Versuchen war in Dextrose-Pepton-Fleischextraktlösung und auf D-Agar Glykogenspeicherung vorhanden.

3. Bac. amylobacter II Gruber (1887).

Soll sich nach Gruber von seinem Bac. amylobacter I, den ich in Händen hatte und der nach meinen Untersuchungen zu unserem Bac. amylobacter gehört, besonders durch die Kaulquappenform der Sporangien und die Größe der Morphoden vom Bac. amylobacter I unterscheiden. Die Stäbe werden als stets stark gekrümmt beschrieben, die Sporen waren 0,8—1,0 μ breit und 1,5 μ lang (gegen 1,0—1,2 × 3,0 bei I); im freien Zustande waren sie von einer stark vergallerten Membran umgeben. Bildete ebenso wie I aus Kohlenhydraten Buttersäure und Butylalkohol.

4. Bac. amylocyme Perdrix (1891).

Aus Pariser Leitungswasser isoliert. Anaërob, aber in Flüssigkeitsschichten bei Luftzutritt wachsend; lebhaft bewegliche 2—3 μ lange und 0,5 μ breite (auf Kartoffel und den gewöhnlichen Nährmedien) abgerundete Stäbe, oft Ketten, Gegenwart von Luftsauerstoff hinderte die Beweglichkeit oder hob sie auf. Optimaltemperatur (für Gärung) ca. 35°, Maximaltemperatur 42—43°, bei 16—17° fand nur noch mäßige Gasentwickelung statt. Sporen vertrugen ein Erhitzen von 10 Minuten auf 80°. Glykogenreaktion (?). Vergor die Zuckerarten und Stärke, nicht Cellulose und milchsauren Kalk. Gärungsprodukte ziemlich eingehend untersucht; aus Glukose (in Fleischbouillon) wurde gebildet: Buttersäure und Essigsäure, CO^2 und H, aus Stärke außerdem noch Amylalkohol und Aethylalkohol, welche nach der Duclauxschen Tröpfchenmethode (1895) bestimmt wurden. Pringsheim (1906) bezweifelt die Richtigkeit der Angaben über die Bildung von Amyl- und Aethylalkohol und führt sie wohl mit Recht auf durch die Unzuverlässigkeit der Duclauxschen Methode verursachte Beobachtungsfehler zurück. Pringsheim konnte den Bacillus übrigens im Institut Pasteur nicht mehr erhalten.

5. Granulobacter saccharobutyricum Beijerinck und

6. Granulobacter lactobutyricum Beijerinck (1893)

vgl. p. 470, wo auseinandergesetzt wurde, weshalb die von Beijerinck angegebenen Unterschiede nicht dazu berechtigen, diese Formen als selbständige Species anzusehen.

7. Bac. orthobutyricus Grimbert (1893)

isoliert aus einer gärenden Lösung von weinsaurem Kalk, die mit einem Tropfen einer Mazeration von Leguminosensamen geimpft war. Zylindrische, abgerundete Stäbe, 1,5 μ breit, 3—6 μ lang; in jungen Kulturen sollen sich häufig an einem Ende glockenschwingelartig angeschwollene Stäbe finden, diese Form soll in dem Maße, wie die Kultur älter wird, verschwinden, so daß in ca. 1 Woche alten Gärungsflüssigkeiten nur noch schlanke Formen vorkommen. In einem Stäbchen sollen 2—3 Sporen ausgebildet werden, eine Angabe, die zweifelsohne auf irrtümliche Beobachtung zurückzuführen ist (vgl. p. 437). Junge Stäbe, wenn sie vor Sauerstoffzutritt geschützt waren, lebhaft beweglich, sporenbildende nicht mehr. Mit Jod soll er sich in keinem Entwickelungsstadium blau färben. In Lösungen, die in Kontakt mit der Luft gelassen werden, soll er sich nicht entwickeln; die Sporen vertrugen 10 Minuten langes Erhitzen auf 80°, bei 85° wurden sie getötet. Bezüglich seines Verhaltens verschiedener C-Quellen gegenüber vgl. p. 468. Gärungsprodukte: normaler Butylalkohol, wenig Isobutylalkohol, normale Buttersäure, Essigsäure; bisweilen etwas Ameisensäure, CO^2 und H.

8. Beweglicher Buttersäurebacillus Grassberger und Schattenfroh (1899—1907).

Der in dieser Arbeit schon öfter genannte Bacillus, dessen Morphologie und Chemismus Grassberger und Schattenfroh sehr eingehend studierten, weicht in keiner seiner bislang beschriebenen Eigenschaften von unserer Species ab.

9. Bac. lactopropylbutyricus non liquefaciens Tissier und Gasching (1903).

Sehr verbreitet in Milch und in fast allen untersuchten Proben gefunden. „Eine Varietät des anaëroben Buttersäurebacillus.“ Morphologische Beschreibung sehr unvollkommen: großes, dickes, plumpes, sehr bewegliches Stäbchen, die abgerundeten etwas länglichen Sporen wurden besonders auf zuckerfreien Nährböden ausgebildet, entweder in der Mitte oder an einem Ende. „In keinem Zustande seiner Entwickelung, selbst nicht während der Sporenbildung, beobachtet man Färbung mit Jod.“ Sporen vertrugen 2 Minuten langes Abkochen bei 100°, nach 5 Minuten waren sie getötet. Streng anaërob. Milch wurde nicht koaguliert, nur bei Zusatz von Zucker; das Koagulum blieb völlig intakt. Von Kohlenhydraten bevorzugte er Glukose, ferner griff er Saccharose, die Hexosen und Glyzerin an, nicht Stärke, Milchzucker und milchsaure Salze (Calcium und Ammonium). An flüchtigen Säuren bildete er vorzüglich Butter- und Propionsäure zu ungefähr gleichen Teilen, an nicht flüchtigen inaktive Milchsäure und geringe Mengen Rechtsmilchsäure. Aus Glyzerin bildete er keine Säuren. Aldehydreaktion negativ, Jodoformreaktion positiv, also wohl Spuren von Alkohol. Eiweiß wurde nicht abgebaut.

10. Clostridium der Hanfröste Behrens (1902).

Reinisolierung verursachte große Schwierigkeiten. Peritricher, obligat anaërober Bacillus mit abgerundeten Enden, später Ketten, spindelförmige Sporangien, die ellipsoidischen Sporen in der Mitte desselben oder einem Ende mehr genähert, Größe derselben 1,0 × 1,5 μ. Glykogenreaktion positiv. Vergor in 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Dikaliumphosphat und 0,2 Proz. Magnesiumsulfat enthaltender Lösung Glukose, Galaktose, Rohrzucker, Milchzucker und die Mittellamellensubstanz, auch Stärke wurde angegriffen. In Rohkultur (Clostridium + nicht gärfähiges falkultativ anaërobes Bakterium) wurde noch vergoren Lävulose, nicht Xylose, Arabinose, Cellulose, Calciumlaktat, Gummi arabicum, Quittenschleim. Als N-Nahrung konnte von den geprüften N-Quellen: Pepton und Ammoniumsulfat nur Pepton verwendet werden, nicht Ammoniumsulfat.

11. Plectridium pectinovorum Störmer (1904)

vgl. p. 469, 542 und 549. Soll nur bei Ernährung mit komplexen Kohlenhydraten, wie Pektin oder Stärke Blaufärbung mit Jod geben, nicht in Traubenzucker oder Arabinoselösung. Soll ferner auf keinen Fall in alkalischer Fleischbouillon, auf Fleischpeptongelatine oder Fleischpeptonagar wachsen (vgl. p. 464). Als N-Nahrung ausschließlich Eiweiß oder Albumosen (Pepton Witte) verwendend, Asparagin, Ammoniumsulfat oder Salpeter deckten das N-Bedürfnis nicht. Sporen vertrugen leicht 10-minütiges Erhitzen auf 80°, gegen 100° waren sie empfindlicher.

12. Clostridium giganteum Keutner (1904).

Bisweilen in mit Seeschlick angesetzten Rohkulturen beobachtete besonders große Formen, welche vorzüglich dann auftraten, wenn die Kulturen im sauerstofffreien Raume gehalten wurden.

Wahrscheinlich zufällig entstandene anormal große Sporangien, wie ich sie in ähnlicher Größe in Reinkulturen — stickstofffreie Lösung mit Erde geimpft — auch bisweilen beobachtete (s. p. 399 und Taf. II, Fig. 1—6). Merkwürdigerweise habe ich diese große Formen nicht aus Ostseeschlick, den mir Herr Prof. Benecke in Kiel in liebenswürdiger Weise besorgt hatte, erhalten, öfters jedoch aus anderen Erden[1]). Das Auftreten solcher großen Formen hängt von mir bislang unbekannten Zufälligkeiten ab. Interessant ist, daß trotz der kolossalen Größen der Sporangien dieses Keutnerschen Clostridiums die Sporengröße mit den von mir für die Sporen des Bac. amylobacter gefundenen Mittelwerten völlig übereinstimmt. Die von Keutner gezeichneten 6 Sporen in den Sporangien haben folgende Dimensionen (an der Zeichnung gemessen) 2,8 × 1,5, 2,5 × 1,4, 2,4 × 1,4, 2,0 × 1,2, 2,0 × 1,2, 2,2 × 1,0 μ, d. h. Mittel 2,32 × 1,28 μ. Ich hatte als Mittel von 2600 Einzelmessungen der Sporen der verschiedenen Stämme unseres Bac. amylobacter als Mittel gefunden 2,11 × 1.19 μ (s. p. 430).

---

[1]) Nach einer mündlichen Mitteilung des Herrn Prof. Benecke an Herrn Prof. Meyer ist es ihm auch nicht mehr geglückt, aus Ostseeschlamm diese großen Formen zu erhalten.

13—14. Clostridium δ und ε Haselhoff et Bredemann (1906).

Diese, welche als von den zum Bac. amylobacter gehörenden Formen Clostridium α und β nur ganz geringe, wohl nur durch fluktuierende Variation bedingte Unterschiede aufweisend beschrieben wurden, sind wahrscheinlich ebenfalls zu unserer Species Bac. amylobacter zu ziehen. Sämtliche Vorratskulturen dieser beiden Formen[1]) waren leider verunglückt, so daß ich sie nicht mit zu meinen vergleichenden Untersuchungen heranziehen konnte.

15. Granulobacter urocephalum Beijerinck et van Delden (1906).

Soll sich vom „Granulobacter pectinovorum“, den ich in Händen hatte und der zu unserer Species Bac. amylobacter gehört, zuerst durch seine trommelschlägerförmigen Sporangien und seine nicht runden, sondern länglichen Sporen unterscheiden, ebenfalls an der Röste des Leins beteiligt, aber weniger von dem „Pectosinase“ genannten Enzym bildend. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden bestand darin, daß die Kolonieen des Granulobacter pectinovorum auf Würzeagarplatten mit Kreide „passent bientôt à l'état de détritus, dans lequel les spores seules sont encore nettement reconnaissables“, während die Kolonieen von Granulobacter urocephalum längere Zeit intakt blieben und die Bakterien in ihnen ihre Form deutlich bewahrten. Den größten Unterschied zwischen beiden Formen erblicken Beijerinck und van Delden in dem Umstand, daß Granulobacter urocephalum alle Arten von Kohlenwasserstoffen mit Ammoniaksalzen als N-Quelle vergären konnte, während Granulobacter pectinovorum hierzu Pepton oder Fleischbouillon nötig hatte (er vergärt, wie meine Untersuchungen zeigen, sogar ohne jeglichen Zusatz von N-Verbindungen). Granulobacter urocephalum erzeugte ferner geringe Mengen Diastase, Granulobacter pectinovorum keine; die Trypsinbildung ist bei beiden gleich.

16. Schardingers Alkohol bildendes Clostridium (1907).

Aus Weizenmaische, anaërob, besonders gutes Wachstum auf Kartoffel; „die vornehmste Wuchsform des Stäbchens auf diesem Nährboden ist das Clostridium, dessen einer Pol sich mit Jod blau (in alten Kulturen mit Jod violett) färbt, im anderen Pole findet sich nur hier und da im ungefärbten Inhalte ein blaues Körnchen“. Größe der Sporen 1 × 2 μ. Gelatine nicht verflüssigt. Alle Kulturen rochen nach Buttersäure. Bildete aus 5 kg Kartoffeln nach 4—5 Tagen bei 37° C 150 ccm Alkohole, zumeist Butylalkohol, Amylalkohol in nur durch den Geruch nachweisbaren Spuren, wahrscheinlich auch Propylalkohol, ferner Buttersäure und Essigsäure, Milchsäure wurde nicht nachgewiesen.

17. Rodellas Clostridium von Leguminosenknöllchen (1906/07)

erhalten von Knöllchen, die zuerst mit destilliertem Wasser, dann mit 1-proz. Sublimat, dann mit sterilem Wasser abgewaschen und 5 Minuten auf 80° erhitzt waren und die unter eine hohe Schicht von Dextroseagar gebracht wurden; er erzielte so regelmäßig die Entwickelung eines dem „Clostridium Pasteurianum“ sehr ähnlichen Anaërobiums, das sich von diesem nur dadurch unterschied, daß es auch in Gelatine und Dextroseagar gut wuchs (vgl. p. 464). Es ist zu vermuten, daß die regelmäßige Entwickelung dieses Clostridiums nur darauf zurückzuführen ist, daß bei der vorgenommenen Desinfektion einige Sporen übrig geblieben sind und daß es nichts mit der Knöllchenbildung zu tun hat, wie Rodella meint.

Rodella hält dieses Clostridium von Leguminosenknöllchen für identisch mit seinem 1905 beschriebenen Anaërobium II und glaubt, daß dieser Darmbewohner auch im Darm Stickstoff assimiliere, welcher dann dem Menschen zu Nutzen käme.

18. Von Hiblers Art VIII bezeichnet: nicht pathogen, Bac. amylobacter van Tieghem (1908).

3 Stämme isoliert aus Pankreasgewebe einer Ratte, aus Schlamm und aus Strohteilen eines Düngerhaufens. Morphologisch mit unserem Bac. amylobacter übereinstimmend. Maximale Sporentötungszeit bei 98° 5 Minuten.

3) Vermutlich zu unserer Species Bac. amylobacter zu ziehende Formen, die jedoch wegen völlig ungenügender Charakterisierung zu streichen sind. (Formen, für welche

---

[1]) Clostridium γ, welches wir damals ebenfalls beschrieben, und dessen Originalkulturen leider ebenfalls mit verunglückt waren, möchte ich jetzt fast für Bac. asterosporus halten. Die Form ist jedenfalls als „Spezies“ zu streichen.

nicht genügend positive Kennzeichen vorhanden sind, aber auch keine, welche gegen die Zugehörigkeit zu unserer Species sprechen.)

1) Vibrion butyrique Pasteur.
2) Tréculs Urocephalum, Amylobacter, Clostridium.
3) Nylanders Amylobacter.
4) Bac. amylobacter van Tieghem.
5) Bact. navicula Reinke und Berthold.
6) Bac. butylicus Fitz.
7) Bac. butyricus Botkin.
8) Amylobacter butylicus Duclaux.
9) Winogradsky-Fribes Flachsrösteerreger.

1. Vibrion butyrique Pasteur (1861).

„Das Buttersäureferment.“ Morphologisch nicht näher untersucht: „vivent sans air“, „l'air les tuès“, kleine, zylindrische, abgerundete, meist gerade, lebhaft bewegliche Stäbe, einzeln oder in Ketten, 2—20 μ lang, im Mittel 2 μ breit. Glykogenreaktion nicht erwähnt.

2. Trécules „plantules amylifères“ (1865).

a) Urocephalum, Kaulquappenform, b) Amylobacter, Zylinderform, c) Clostridium, Spindelform. Für spontan in den Zellen faulender Pflanzen entstehende Pflänzchen gehalten, beschreibt die 3 Formen, die durch Uebergänge verbunden sind, beobachtete Violettfärbung mit Jod und bemerkte auch schon, daß ein polarer Fleck („Initialpunkt, Keim, Knolle“) bei der Färbung mit Jod meist ungefärbt blieb. Später (1867) beobachtete er Eigenbewegung und Vermehrung durch Teilung.

3. Nylanders Amylobacter (1865).

Ebenfalls aus mazerierten Pflanzenteilen erhalten, im Gegensatz zu Trécul beobachtete er „eine gewisse Analogie mit Bakterien“. Eigenbewegung, oft zu Ketten verbunden, 6—20 μ lang, 2,5 μ breit, gewöhnlich zylindrisch, bisweilen an einem Ende ellipsoidisch verdickt, am anderen verjüngt, von sehr veränderlicher Gestalt, oft durch Jod violett gefärbt, wobei nur die Spitzen, und zwar eine oder beide, ungefärbt blieben, bisweilen wurde nur eine dünne Mittelzone gefärbt, selten färbten sie sich ganz.

4. Bac. amylobacter van Tieghem (1877—79).

Ebenfalls aus mit Wasser übergossenen pflanzlichen Organen (Wurzeln, Blättern, Früchten etc.) isoliert. Morphologisch schon eingehender beschrieben: die 3 Trécul-schen Formen sind drei aufeinanderfolgende Entwickelungsstadien eines und desselben Organismus, die sich mit Jod bläuende Substanz („Amidon“) lagert sich von dem Augenblicke an im Protoplasma ab, in dem das Bakterium seinen vegetativen Zustand beendet und sich zur Sporenbildung anschickt, in dem Grade, in dem die Spore wächst, wird die „Amidon“ genannte Substanz aufgebraucht und verschwindet mit Ausreifung der Spore ganz. Anaërob, soll Cellulose mit Hilfe von „Diastase de cellulose“ vergären, ferner wurden viele Kohlenhydrate, wie Glukose, Rohrzucker, lösliche Stärke, Dextrin, Mannit, auch Glyzerin und die Kalksalze der Milch-, Malon- und Zitronensäure vergoren unter Bildung von H, CO^2 und Buttersäure.

Wohl keine Reinkultur.

5. Bact. navicula Reinke u. Berthold (1879).

In naßfaulen Kartoffeln gefunden, hat nicht in Reinkultur vorgelegen. Individuen weberschiffchenförmig, oft lebhaft beweglich, mit Jod verschieden starke Blaufärbung gebend. Buttersäuregeruch bei den naßfaulen Kartoffeln.

6. Bac. butylicus Fitz. (1882).

Isoliert aus Heu, anaërob, 1—2 μ breit, 5—6 μ lang, speicherte zu bestimmten Zeiten eine sich mit Jod violett bis schwarz färbende Substanz; vergor Glyzerin, Mannit und Rohrzucker und bildete Buttersäure, Butylalkohol und Milchsäure in recht verschiedenen Verhältnissen, Cellulose und milchsaurer Kalk wurden nicht angegriffen; Temperaturoptimum der Gärung bei 40°. Viele der noch erwähnten Eigenschaften, wie Verlust der Gärfähigkeit durch andauernde und reichliche Zufuhr von Sauerstoff oder durch hohe Temperatur, ferner die Angaben über die Widerstandsfähigkeit der Sporen: 2 und 6 Stunden bei 95°, 6—11 Stunden bei 90° sind wohl zum Teil auf Verunreinigungen, zum Teil auf irrtümliche Beobachtung zurückzuführen.

Es ist bedauerlich, daß die ausgezeichneten chemischen Untersuchungen des Autors nicht verwendbar sind, da er nicht mit Reinkulturen arbeitete.

(Siehe a. Morin 1887, Emmerling 1902).

7. Bac. butyricus Botkin (1892).

Soll in der Natur sehr verbreitet sein (vgl. auch Flügge, 1894, p. 288), wurde aus Milch, Leitungswasser, Brunnenwasser, Gartenerde und im Staube fast immer erhalten. Botkin gewann seinen Bacillus meist aus Milch in der Weise, daß er Milch in gewöhnlichen Flaschen mit Patentverschluß $^1/_2$ Stunde lang im Dampftopf sterilisierte, sofort hermetisch verschloß und bei 37—38° stehen ließ; nach 12 Stunden begann dann meist eine lebhafte Gärung.

Beschrieben als streng anaërob, Optimaltemperatur 37—38°, auch noch gut bei 42° wachsend, bei 18° sehr verlangsamte Entwickelung. Aussehen der Morphoden je nach dem Nährboden verschieden: auf Agar und Gelatine mit $1^1/_2$ Proz. Dextrose waren die Stäbe ca. 0,5 μ breit und 1—3 μ lang, in älteren Kulturen auch länger, Ketten häufig; in flüssigen Nährböden (Bouillon oder Milch mit $1^1/_2$ Proz. Dextrose) waren die Stäbchen dünner, oft ca. 10 μ lang und länger, ohne daß Gliederung bemerkbar war; auch lange Ketten nicht selten. Stäbchen beweglich. Auf stärkehaltigen Nährböden wurden nach 2—3 Tagen in den Stäbchen mit Jod sich bläuende Körnchen beobachtet. In Dextrosebouillon wurden Involutionsformen beobachtet, bedeutend verdickte und angeschwollene Exemplare ohne Sporen. Sporen erschienen nur in zuckerfreien Nährböden, am besten in stärkehaltigen, sie entstanden annähernd im Zentrum des Sporangiums oder am Ende desselben; Größe der Sporen verschieden, im Mittel 1 μ breit und 2—3 μ lang; Form meist länglich mit abgerundeten Enden, selten auch ovoid. Aus Milch wurde gebildet Butter-, Essig-, Ameisen- und Milchsäure, Butyl- und Aetylalkohol, CO^2 und H. Stärkelösung (3 Proz. Kartoffelstärke, 2 Proz. Kreide, 0,008 Proz. Ammoniumphosphat, 0,004 Proz. Magnesiumsulfat, 0,002 Ammoniumsulfat) wurde hydrolisiert, in der Flüssigkeit fand sich ein + drehender Körper, der Fehlingsche Lösung reduzierte und mit Phenylhydracin gelbe Kristalle gab. Milchsaure Salze wurden nicht angegriffen. Gelatine wurde verflüssigt.

Grassberger u. Schattenfroh, die die Botkinschen Versuche nachprüften (1899, 1900, p. 63 u. 100) konnten niemals einen Buttersäurebacillus auffinden, der mit dem von Botkin beschriebenen identifiziert werden konnte. Sie bezweifeln überhaupt die Existenz dieses Bakteriums mit allen seinen ihm von Botkin beigelegten Eigenschaften und glauben, daß Botkin zu seinen Untersuchungen Mischkulturen in Händen gehabt hat, die zeitweise aus einer von anderer Seite längst beschriebenen Art, dem „beweglichen Buttersäurebacillus“ und zeitweise aus einer auch Botkin unbekannten, erst von Grassberger u. Schattenfroh aufgefundenen Art, dem „unbeweglichen Buttersäurebacillus“ bestand, die außerdem beide noch zeitweise durch fakultativ anaërobe Milchsäurebakterien verunreinigt waren.

8. Amylobacter butylicus Duclaux (1895).

Isoliert aus Erde; der morphologischen Beschreibung nach auf unseren Bac. amylobacter passend; speicherte Glykogen, vergor bei Gegenwart von Liebigs Fleischextrakt Stärke, Saccharose, Maltose, Laktose, Mannit, Glyzerin und milchsauren Kalk und bildete Essig- und Buttersäure, bisweilen etwas Milchsäure, ferner CO^2 und H.

War wahrscheinlich keine Reinkultur, denn erstens wurde die Form rein isoliert durch sukzessive Aussaaten gärender Kartoffelstücke auf neue Kartoffel und dann „il a suffi d'une culture en strie sur fragment de pomme de terre pour isoler l'Amylobacter butylicus de l'Amylobacter ethylicus1), zweitens beobachtete Verf. auf Nährlösungen öfter eine „pellicula superficielle fait de bacilles entrelacés“, wahrscheinlich eine Verunreinigung durch einen aëroben Bacillus. Damit wären dann auch die Schlüsse bezüglich des Sauerstoffbedürfnisses dieser Form, deren geringere Sauerstoffempfindlichkeit Duclaux als Hauptgrund der Verschiedenheit seiner Form von Beijerincks Granulobacter butylicum ansieht, hinfällig; ebenso dürfte wohl die Spaltung von Eiweiß in Ammoniak, die der Amylobacter butylicus bewirken soll, auf Kosten dieser Verunreinigung zu setzen sein.

9. Winogradsky-Fribes Rösteerreger (1895).

Soll auf Gelatine nicht wachsen. Junge Stäbe waren 10—15 μ lang, 0,8 μ breit, oft lange Fäden, später wurden die Stäbe dicker (1 μ) und bildeten eiförmige Anschwellungen von 3 μ Länge und 2 μ Dicke, so daß Kaulquappensporangien entstanden;

---

1) Siehe diesen unten p. 557.

Größe der Sporen 1,8 × 1,2 μ. Soll Rohrzucker, Glukose, Milchzucker und Stärke nur bei Peptonzusatz, nicht mit Ammonsalzen vergären, dagegen Pektinsubstanzen aus Lein, Birnen, Karotten etc. auch bei Ammoniakernährung; Cellulose und Gummi arabicum griff er nicht an.

4) Formen, die nach unseren bisherigen Kenntnissen nicht zum Bac. amylobacter A. M. et Bred. zu gehören scheinen, da trotz einzelner für die Zugehörigkeit der Form zu unserer Species sprechende Angaben auch Merkmale angegeben werden, die bis jetzt nicht auf Bac. amylobacter passen.

a) Formen, welche Eiweiß tiefgreifend zersetzen, meist unter Bildung stinkiger Gase.

Clostridium foetidum Liborius 1886; Bac. pseudooedematis Liborius 1886; Bac. radiatus Lüderitz 1889; Bac. spinosus Lüderitz 1889; Bac. liquefaciens magnus Lüderitz 1889; Bac. solidus Lüderitz 1889; einige der von Sanfelice 1893 beschriebenen Anaëroben, besonders No. II (B. cephaloides Migula), No. III (B. pseudosolidus Migula), No. V (B. subfoetidus Migula), No. VI (B. pseudomagnus Migula); einige der von Gerstner beschriebenen „verschiedenen Anaëroben"; Flügges Anaërobium IV 1894; Kedrowskis beide Buttersäurebacillen 1894 (B. Kedrowskii u. B. pseudonavicula Migula); Bac. putrificus Bienstock 1899/1906; Bac. paraputrificus Bienstock 1906; Bac. bifermentans sporogenes Tissier et Martelly 1902; Bac. saprogenes carnis Salus 1904; Clostridium foetidum carnis Salus 1904; viele der Rodellaschen Käsebacillen (so die Stämme A und B 1906).

b) Formen, die angeblich nicht streng anaërob sind.

1. Bacter. Fitz. E. Buchner 1885 (Aethylbacillus), s. a. H. Buchner 1881.
2. Amylobacter III Gruber 1887.
3. Granulobacter polymyxa Beijerinck (vielleicht Bac. asteroporus A. M. s. Bredemann 1908, p. 85).
4. Amylobacter ethylicus Duclaux 1895 (vielleicht ebenfalls Bac. asterosporus?).
5. Amylobacter navicula Wehmer 1898.

c) Formen, welche pathogen sind, bezw. als pathogen beschrieben werden und auch meist Eiweiß tiefgehend zersetzen.

1. Unbeweglicher Buttersäurebacillus Grassberger u. Schattenfroh (1900—1902).

Von Grassberger und Schattenfroh anfänglich für eine von ihrem „beweglichen Buttersäurebacillus" streng gesonderte Art mit großer Konstanz der Merkmale angesehen: streng anaërobe, plumpe, unbewegliche, in Reinkultur asporogene Stäbe, die fast regelmäßig aus Spontangärungen von unvollkommen sterilisierter Milch nach dem Botkinschen Verfahren (siehe oben p. 556) erhalten wurden, veränderte im asporogenen Zustande Eiweißstoffe kaum und bildete aus Zucker Milchsäure, Buttersäure, CO^2 und H, keine Alkohole.

Später gelang es Verff. festzustellen, daß diese so beschriebenen unbeweglichen Buttersäurebakterien „bloß unbewegliche Zustände denaturierter bezw. leicht denaturierbarer Buttersäurebakterien seien, deren sporogene beweglichen Zustände bisher nicht bekannt sind, oder mit anderen Namen bezeichnet werden". Durch geeignete Züchtung brachten sie sie zur Sporenbildung, und hierbei ergab sich die eigentümliche Tatsache, daß nun je nach den Umständen zwei verschiedene „Zustände", die zum Teil auch ineinander überführbar waren, auftraten:

1) Der dem „beweglichen Buttersäurebacillus" sehr nahestehende Zustand: Clostridium-Form, nicht peptonisierend, Granulose bildend.
2) Der dem Bienstockschen Bac. putrificus sehr nahestehende Zustand: „Köpfchensporangien, geringe Neigung zur Granuloseeinlagerung, Peptonisierer, Eiweißzersetzer".

Falls es sich bei den „asporogenen unbeweglichen Zuständen", deren Umwandlung in die verschiedenen sporenbildenden Zustände gelang, wirklich stets um ein und dieselbe Species und nicht etwa nur um asporogene, sich morphologisch und kulturell

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sehr ähnelnde Zustände verschiedener Species gehandelt hat (was ich übrigens nicht für wahrscheinlich halte, s. z. B. den veränderten Chemismus der asporogenen und der sporogenen Zustände), so ist diese Beobachtung ohne Frage von größtem Interesse.

2. Gasphlegmonebacillus (Bac. phlegmones emphysematosae Fränkel).

Nach v. Hibler (1908, p. 398) „als B. aërogenes capsulatus von Welch, als Bacillus der Schaumleber von P. Ernst und als gasbildender Bacillus von Göbel beschrieben".

Daß sich ein Stamm, den ich als „Gasphlegmonebacillus Fränkel, identisch mit dem unbeweglichen Buttersäurebacillus von Grassberger und Schattenfroh" (siehe p. 404) bei meinen Untersuchungen als Bac. amylobacter A. M. et Bred. herausgestellt hat, ist mehrmals erwähnt worden. Doch muß es fraglich bleiben, ob dieser Stamm, der frisch aus Säuglingsstuhl gezüchtet war, wirklich ein „Gasphlegmonebacillus" war.

Von dem Erreger der foudroyanten Gasphlegmone, den Fränkel zuerst als anaërobes unbewegliches Stäbchen beschrieb, haben Grassberger u. Schattenfroh den Nachweis erbracht, daß derselbe eine weit verbreitete Abart ihres „unbeweglichen Buttersäurebacillus" darstellt. Er trat bei der Isolierung sehr häufig im „Zustande" des letzteren auf, konnte dann aber durch geeignete Züchtung in die sporenbildende Form umgewandelt werden und trat in dieser häufig in der Form des dem „beweglichen Buttersäurebacillus" sehr nahestehenden „Zustandes II der dimorphen Buttersäurebakterien" (E des Schemas p. 542) auf: Clostridium-Form, nicht peptonisierend, Granulose bildend.

Nach v. Hibler (1908, p. 150) ist der Gasphlegmonebacillus „durchweg, jederzeit, unter allen Umständen unbeweglich". Maximale Sporentötungszeit nach v. Hibler, p. 217, 12 Minuten bei 98°.

3. Rauschbrandbacillus.

Dieser steht nach Grassberger u. Schattenfroh (1907, p. 45) einerseits dem „beweglichen Buttersäurebacillus" sehr nahe und stellt andererseits das Bindeglied von diesem zu dem „unbeweglichen Buttersäurebacillus" dar. Er soll, ganz ähnlich wie der Gasphlegmonebacillus einerseits im „denaturierten unbeweglichen Zustande" (nach der Isolierung auf künstlichen Nährböden), andererseits in „sporenbildenden lebhaft beweglichen Zuständen" vorkommen, und zwar auch in diesem wieder in zwei verschiedenen Formen, in einer dem „beweglichen Buttersäurebacillus" sehr nahestehenden und in einer dem Bienstockschen Bacillus sehr nahestehenden (C und G des Schemas p. 542).

v. Hibler (1908) konnte diese Angaben Grassberger u. Schattenfrohs nicht bestätigen, er ist der Meinung (p. 229), daß diesen Forschern bei ihren Untersuchungen nicht der Rauschbrandbacillus, sondern zumeist der Gasphlegmonebacillus vorgelegen hat, und daß sie die an letzterem beobachteten Erscheinungen irrtümlich auf den Rauschbrandbacillus beziehen. Maximale Sporentötungszeit nach v. Hibler, p. 217, 5 Minuten bei 98°.

Zum experimentellen Vergleich dieser und der vorstehenden Form, des Gasphlegmonebacillus, mit unserem Bac. amylobacter stehen den Herren Medizinern Kulturen des letzteren jederzeit gerne zur Verfügung.

4. Bac. oedematis maligni Koch.

Maximale Sporentötungszeit nach v. Hibler 1908, p. 221, 150 Minuten bei 98° (s. a. bei v. Hibler, Ghon-Sachsscher Bacillus, p. 401, Sporentötungszeit 6 Min. bei 98° und Novyscher Bacillus, p. 406, Sporentötungszeit 180 Min. bei 98°).

5. Bac. enteritidis sporogenes Klein (1895/1901).

Maximale Sporentötungszeit nach v. Hibler 6 Min. bei 98°.

6. Bac. botulinus van Ermengem (1897).

Maximale Sporentötungszeit nach van Ermengem 1/4 Stunde bei 85°, nach v. Hibler 180 Min. bei 98°.

7. Bac. cadaveris sporogenes Klein (1899. 1901).

Maximale Sporentötungszeit nach v. Hibler 225 Minuten bei 98°. v. Hibler schreibt p. 414: „. . . sei hier ausdrücklich bemerkt, daß ich . . . auf Grund meiner fortgesetzten Untersuchungen und soweit die in der Literatur enthaltenen Angaben der

Autoren es beurteilen lassen, die als Clostridium foetidum Liborius, als Bac. radiatus Lüderitz und als Bac. putrificus Bienstock bezeichneten Formen vom Bac. cadaveris sporogenes nicht abzutrennen vermag.“

8. Bacille de Legros (Achalme 1902).
9. Bacille du rhumatisme articulaire aigu.
(Literatur bei Achalme 1902. p. 661.)
10. Bacillus perfringens Veillon (Achalme 1902).
11. Rodellas Mundanaërobier „Putrificus-Arten“ (1905).

Literaturverzeichnis.

Achalme, P., Recherches sur quelques bacilles anaérobies et leur differenciation. (Ann. de l’Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. p. 641.)

Albrecht, Ueber Infektion mit gasbildenden Bakterien. (Arch. f. klin. Chirurg. Bd. LXVII. 1902. p. 514.)

Arloing, Cornevin et **Thomas**, Le charbon symptomatique du boeuf. II. édit. Paris 1887.

Asby, The Journal of Agric. Science. 1907. Einige Beobachtungen über die Assimilation von atmosphärischem Stickstoff durch freilebende Bodenbakterien (Ref.) (Jahresb. über die Fortschritte a. d. Gesamtgeb. d. Agrikulturchemie. III. Folge. Bd. IX. 1906. p. 79.) (Aus Krzemieniewski 1908.)

Baier, Ed., Ueber Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 17, 84, 118.)

Behrens, J., Die Arbeit der Bakterien im Boden und im Dünger. (Arb. d. Deutsch. Landw.-Ges. 1901. Heft 64.)

—, Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffaser durch natürliche Röstmethoden. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 114.)

—, Die Pectingärung, in Lafars Handbuch d. tech. Mykologie. Bd. III. 1904. p. 269—285.

Beijerinck, M. W., Les bactéries lumineuses dans leurs rapports avec l’oxygène. (Arch. Néerland. T. XXIII. 1889. p. 416—28.)

—, Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. (Verhandl. d. K. Akad. v. Wetensch appen. Tweede Sectie. Deel I. No. 10. Amsterdam 1893.)

—, Sur la fermentation et le ferment butylique. (Arch. Néerland. T. XXIX. 1896. p. 1—69.)

—, Ueber die Einrichtung einer normalen Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 699.)

—, Les organismes anaérobies obligatoires ont-ils besoin d’oxygène libre? (Arch. Néerland. Sér. II. T. II. 1899. p. 397—412.)

—, Phénomènes de réduction produits par les microbes. (Ebenda Sér. II. T. IX. 1904. p. 130/58.)

—, Ueber oligonitrophile Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 561—582.)

— und **van Delden**, Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.)

— —, Ueber die Bakterien, die bei der Mazeration des Leins tätig sind. (Arch. Néerland. Sér. II. T. IX. 1906. p. 418.)

Benecke und **Keutner**, Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 333.)

Benecke, W., Ueber stickstoffbindende Bakterien aus dem Golf von Neapel. Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 1—8.

Berthelot, Recherches nouvelles sur le microorganismes fixateurs de l’azote libre. (Compt. rend. T. CXVI. 1893. p. 842.)

— und **André**, Sur les matières organiques constitutives du sol végétal. (Compt. rend. T. CXVI. 1893. p. 667.)

Bienstock, Ueber die Bakterien der Faeces. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. VII. 1884.)

—, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1889. p. 333—390.)

—, Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. II. Ebenda. Bd. XXXIX. 1901. p. 390—428).

—, Bacillus putrificus. (Straßburger med. Ztg. Bd. III. 1906. Heft 4. p. 107—112.)

—, Bacillus putrificus. (Ann. de l’Inst. Pasteur. T. XX. 1906. p. 407—415.)

Blau Oskar, Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die supramaximalen Tötungszeiten der Sporen der Bakterien etc. Dissertation Marburg 1905. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 97.)

Botkin, Ueber einen Bac. butyricus. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 421—435.)

Bounema, Gibt es Bakterien, die freien Stickstoff assimilieren, oder ist dies ein chemischer Prozeß. (Chemiker-Zeitung. 1903. No. 14.)

Boussingault, Agronomie. N. II. p. 302.

Bredemann, G., Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien). V. M. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXVIa. 1908. p. 362.

—, Untersuchungen über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bac. asterosporus A. M., ausgeführt an 27 Stämmen verschiedener Herkunft. Ein Beitrag zur Speciesfrage der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XXII. 1908. p. 44.)

—, Bemerkungen zu „Hans Pringsheim: Zur Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens von Clostridien". (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXVIa. 1909. p. 795.)

—, Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XXIII. 1909. p. 41.)

Buchner, E., Ueber den Einfluß des Sauerstoffes auf Gärungen. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. IX. 1885. p. 380—416.)

— und Meisenheimer, J., Ueber Buttersäuregärung. (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1908. p. 1410.)

Buchner Hans, Untersuchungen über die niederen Pilze. (A. d. pflanzen-physiolog. Institut in München v. Prof. Naegeli. 1881. p. 140.)

Chester, Oligonitrophile Bodenbakterien (Ref.). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.) (Aus Krzemieniewski 1908.)

Christensen, H. R., Ueber das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 109, 161, 378.)

Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen.

Czapek, Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Schimmelpilze. (Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiolog. u. Patholog. Bd. II. 1902. p. 557.)

Davenport, Statistical methods with special reference to biological variation. New York 1899.

Dehérain et Maquenne, Sur la réduction des nitrates dans la terre arable. (Compt. rend. T. XCV. 1882. p. 691, 732, 854,)

Dojarenko, Der Stickstoff des Humus. (Landw. Vers.-St. Bd. LVI. 1902. p. 311.) (Aus Krzemieniewski 1908.)

Dougal, D. T. Mac, Titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants. (Minnesota botanical studies. Bull. 9. Part IV. 27. Sept. 1894. p. 186—221.)

Duclaux, E., Le lait. Paris 1887.

—, Sur la nutrition intracellulaire. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 811.)

—, Sur la dosage des alcools et des acides volatiles. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 265—281.)

Ellis, David, Beiträge zur Kenntnis der Spirillaceen und Coccaceen. Dissertat. Marburg 1902. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. IX. 1902. p. 546.)

Emmerling, Ueber einen neuen aus Glyzerin Buttersäure erzeugenden Bacillus. (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. XVII. 1896. p. 2726.)

—, Butylalkoholische Gärung. (Ebendort. 1897. p. 451.)

—, Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. Braunschweig (Ferd. Vieweg u. Sohn) 1902.

Ermengem, van, Ueber einen neuen anaeroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XXVI. 1897. p. 1.)

Fischer, Hugo, Ueber Stickstoffbakterien. (Verhandl. des naturhistor. Vereins der preuß. Rheinlande, Westfalens etc. Jahrg. LXII. 1905. p. 135.)

—, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 33.)

—, Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. (Ebenda Bd. XV. 1906. p. 235.)

Fitz, A., Ueber Spaltpilzgärungen. (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1878. Bd. XI. p. 42—55; 1890—1899. 1882. Bd. XV. p. 867; 1883. Bd. XVI. p. 844; 1884. Bd. XVII. p. 1188.)

Flügge, C., Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 272—343.)

Fränkel, Ueber Gasphlegmone. [Monographie.] Hamburg und Leipzig (Leop. Voss) 1893.

—, Ueber den Erreger der Gasphlegmone. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. XLVI. 1899. p. 1369.)

v. **Freudenreich** und **Jensen**, Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt II. Bd. XVII. 1906. p. 225.)

— —, Ueber die im Schabzieger stattfindende Buttersäuregärung. (Landw. Jahrb. der Schweiz. Jahrg. XX. 1906. p. 312.

Fröhlich, **Herm.**, Stickstoffbindung durch einige auf abgestorbenen Pflanzen häufige Hyphomyceten. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XLV. 1907. p. 256—303.)

Garbowski, L., Ueber Abschwächung und Variabilität bei Bac. luteus Smith et Baker und Bac. tumescens Zopf. [Dissert.] Marburg 1907. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIX. 1907.)

Gayon und **Dupetit**, Recherches sur la réduction des nitrates par les infiminents petits. (Nancy 1886 und Annal. de la science Agronom. Paris. L. Grandeau. 1886).

Gerlach und **Vogel**, Stickstoffsammelnde Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 669.)

— —, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. (Ebenda. Bd. IX. 1902. p. 815; Bd. X. 1903. p. 636.)

Gerstner, Beiträge zur Kenntnis obligat anaërober Bakterienarten. (Arb. a. d. bakt. Inst. d. Techn. Hochschule Karlsruhe. Bd. I.)

Gottheil, O., Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. [Dissertation.] Marburg 1901. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901.)

Grassberger und **Schattenfroh**, Ueber Buttersäuregärung. II. Abhandl. (Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 219—265.)

— —, Ueber Buttersäuregärung. III. Abhandl. (Ebenda. Bd. XLVIII. 1904. p. 1—106.)

— —, Ueber Buttersäuregärung. IV. Abhandl. (Ebenda. Bd. LX, 1907. p. 40—78.)
(S. auch **Schattenfroh**.)

Grassberger und **Passini**, Ueber die Bedeutung der Jodreaktion für die bakteriologische Diagnose. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 1.)

Grimbert, M. L., Fermentation anaérobie produite par le bacillus orthobutylicus, ses variations sous certaines influences biologiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VII. 1893. p. 353.)

Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. [Dissert.] Marburg 1902. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)

Gruber, Eine Methode der Kultur anaërobischer Bakterien nebst Bemerkungen zur Morphologie der Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. I. 1887. p. 367.);

Hansen, **Emil Chr.**, Contributions à la connaissance des organismes, qui peuvent se trouver dans la bière etc. (Resumé a. d. Medeelelser fra Carlsberg Laborateriet. 1879. p. 74.)

Haselhoff und **Bredemann**, Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 381—414.)

— —, Untersuchungen über Konservenverderber. (Ebenda. Bd. XXXV. 1906. p. 414—444.)

Haselhoff, E., Die Stickstoffanreicherung des Bodens durch freilebende Bakterien. (Journ. f. Landw. 1908.)

—, Mitteilungen der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Marburg: Versuche über die Einwirkung schwefliger Säure auf kupferhaltigen Boden. (Intern. phytopatholog. Dienst. Jahrg. I. 1908. p. 73.)

Heinze, **Berth.**, Einiges über Säurebildung durch Pilze, insbesondere über Essigsäure- und Oxalsäurebildung durch Aspergillus niger. (Annal. Mykolog. Bd. I. 1903. p. 394.)

—, Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 1.)

—, Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu dieser Abhandlung. (Ebenda. Bd. XIV. 1905. p. 9.)

—, Sind Pilze imstande, den elementaren Stickstoff der Luft zu verarbeiten und den Boden an Gesamtstickstoff anzureichern? (Annal. Mykolog. Bd. IV. 1906. p. 41—63.)

Heinze, Berth., Ueber die Stickstoffassimilation durch niedere Organismen. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1907. p. 889.)

v. Hibler, E., Untersuchungen über die pathogenen Anaëroben. gr. 8°. 436 pp. Jena (Gustav Fischer) 1908.

Jacobitz, E., Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den Bac. ellenbachensis α Caron. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. p. 97.)

—, Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs. Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 783.)

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 293.)

Jentys, Ueber den Einfluß hoher Sauerstoffpressungen auf das Wachstum der Pflanzen. (Unters. a. d. botan. Institut Tübingen. 1888. p. 419.)

Kamen, Zur Aetiologie der Gasphlegmone. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XXXV. 1903. p. 554, 686.)

Kaserer, H., Ueber einige neue Stickstoffbakterien mit autotropher Lebensweise. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. X. 1907. p. 37.)

Kedrowski, Ueber die Buttersäure erzeugenden anaëroben Bakterien. (Wratsch. 1894. p. 958 [russisch].)

—, Ueber zwei Buttersäure produzierende Bakterienarten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. 1894. p. 445—457.)

Kemp, Ueber Versuche, aus Gärungsstühlen den Granulobacillus saccharobutyricus zu züchten. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XLVIII. 1908. p. 54.)

Kerry und Fränkel, Bemerkungen zur Arbeit von Botkin: Ueber einen Bac. butyricus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XII. 1892. p. 204.)

v. Klecki, Valerian, Ein neuer Buttersäuregärungserreger (Bac. saccharobutyricus) und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 169, 249, 286.)

Keutner, Joseph, Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. (Wissensch. Meeresunters. N. F. Bd. VIII. 1904.)

Kitasato, Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Kulturverfahren. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889. p. 107.)

Klein, E., Ueber einen pathogenen anaëroben Darmbacillus: Bac. enteritidis sporogenes. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XVIII. 1895. p. 737.)

—, Ein weiterer Beitrag über den anaëroben pathogenen Bac. enteritidis sporogenes. (Ebenda. Bd. XXII. 1897. p. 113.)

—, Ein fernerer Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung und Biologie des Bac. enteritidis sporogenes. (Ebenda. Bd. XXII. 1897. p. 577.)

—, Ein Beitrag zur Bakteriologie der Leichenverwesung. (Ebenda. Bd. XXV. 1899. p. 278.)

—, Zur Kenntnis und Differentialdiagnose einiger Anaërobier. (Ebenda. Bd. XXIX. 1901. p. 991.)

Koch, Alfred, Bodenbakterien und Stickstofffrage. (Verh. d. Ges. d. Naturf. und Aerzte. Karlsbad 1902. Teil I. p. 182.)

—, Die Bindung von freiem Stickstoff durch freilebende niedere Organismen. (Lafars Handbuch der techn. Mykologie. Bd. III. 1904. p. 1—22.)

—, Erwiderung. (Journ. f. Landw. 1908.)

Koch, Litzendorff, Krull und Alves, Die Stickstoffanreicherung des Bodens durch freilebende Bakterien und ihre Bedeutung für die Pflanzenernährung. (Journ. f. Landwirtsch. 1907. p. 355.)

Krainsky, A., Azotobacter chroococcum und seine Wirkung im Boden. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 725—736.)

Kramer, E., Bakteriologische Untersuchungen über die Naßfäule der Kartoffeln. (Oesterr. landw. Centralbl. Jahrg. I. 1891. Heft 1. p. 11—26.) Ref. in Biedermanns Centralbl. f. Agrik. Bd. XX. 1891. p. 269.)

Krüger und Schneidewind, Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? (Landw. Jahrb. Bd. XXIX. 1900. p. 771—804.)

Kruyff, E. de, Sur une bactérie aérobe fixant l'azote libre de l'atmosphère: Bacterium Krakataui. (Bull dépt. agric. Indes néerland. T. IV. 1906. p. 9—13.) Ref. in Botan. Centralbl. Bd. CV. 1907. p. 665.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Krzemieniewski, M. S., Physiologische Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beijerinck. (Bullet. de l'académ. des sciences de Cracovie, Classe des sciences mathém. et nat. 1907. p. 746—750.)

—, Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beijerinck. (Ebenda. November 1908. p. 929—1050.) Autoreferat im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXIII. 1909. p. 161.

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt II. Bd. XIX. 1907.)

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Jena (Gustav Fischer).

Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen. Berlin (Jul. Springer) 2. Aufl. 1894. 3. Aufl. 1905.

Lehmann und **Neumann**, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. IV. Aufl. München 1907.

Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886. p. 158.)

Lipman, Report of the soil chemist and bacteriologist. XXVI. Annual Report of the New-Jersey State Agricultural Experiment-Station. New Brunswick. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 318. [Aus **Krzemieniewski** 1908].)

Löhnis, F., Beiträge zur Kenntnis der stickstoffsammelnden Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 582. 713.)

—, Ueber stickstofffixierende Bakterien. III. (Ebenda Bd. XX. 1908. p. 781.)

Löhnis, F. und **Pillai**, Ueber stickstofffixierende Bakterien. II. (Ebenda. Bd. XIX. 1907. p. 87.)

Löhnis, F. und **Westermann**, T., Ueber stickstofffixierende Bakterien. IV. (Ebenda. Bd. XXII. 1909. p. 234.)

Lubinski, Ueber die Anaërobiose bei der Eiterung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XVI. 1894. p. 771.)

Lüderitz, Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 146.)

Mach, F., Die Bestimmung des Titers der für Stickstoffbestimmungen dienenden Lauge. (Landw. Versuchsstat. Bd. LXIII. 1906. p. 71.)

Macé, Les microbes des nodosités des légumineuses. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.)

Matzuschita, Ueber die Veränderlichkeit der Eigenschaft des Bac. anthracis, Gelatine zu verflüssigen. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 303.)

—, Beobachtungen über den merkwürdigen Teilungsprozeß bei einem proteusähnlichen Luftbacillus. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 257.)

Meyer, Arthur, Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an Astasia asterospora A. M. und Bac. tumescens Zopf. (Flora. Ergänzungsband. Bd. LXXXIV. 1897. p. 185.)

—, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kern- und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 428.)

—, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena (Gustav Fischer) 1903.

—, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterienspecies. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1905. No. 10/11.)

—, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterienspecies und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. (Ebenda. Bd. XVI. 1906. No. 10/13. p. 386—398.)

—, Der Zellkern der Bakterien. (Flora. Bd. XCVIII. 1908. p. 335.)

—, Bemerkungen über Aërobiose und Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XLIX. 1909. p. 305.)

Migula, W., System der Bakterien. Jena (Gustav Fischer) 1900.

Montemartini, L., La fissazione dell'azoto atmosferico durante la decomposizione delle foglie cadute da gli alberi. (Staz. sperim agrar. italian. Vol. XXXVIII. 1905. fasc. 10, 11, 12. Ref. im Botan. Centralbl. Bd. CII. p. 146.

Morin, Charles, Formation d'alcool amylique normal dans la fermentation de la glycérine par le bacillus butylicus. (Compt. rend. T. CV. 1887. p. 815.)

Moro, Ernst, Morphologische und biologische Untersuchungen über die Darmbakterien des Säuglings. (Jahrb. f. Kinderkrankh. und phys. Erziehung. Bd. LXI. 1905. III. Folge. Bd. XI. p. 722.)

Neide, E., Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gramfärbung in Betracht kommenden Faktoren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. p. 508.)

Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildenden Bakterien. Diss. Marburg 1904. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 1.)

Nikitinsky, J., Ueber die Zersetzung der Huminsäure durch physikalisch-chemische Agentien und durch Mikroorganismen. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXVII. 1902. p. 365. (Aus Krzemieniewski 1908.)

Nylander, W., Circa Amylobacteria Tréc. notula. (Flora. Bd. XLVIII. 1865. p. 521.)

—, Adhuc circa Amylobacteria adnotatio. Ebenda p. 579.

—, Sur les Amylobacter. (Bull. de la société botanique de France. T. XII. p. 395.)

Omelianski, Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 193.)

—, Die Cellulosegärung. (Handb. d. techn. Mykologie. Bd. III. 1904. p. 245—268.)

Passini, F., Ueber granulosebildende Darmbakterien. (Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 1.)

—, Ueber das regelmäßige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaërobischen Buttersäurebakterien im normalen Stuhle. (74. Naturf.-Vers. Karlsbad 1902 und Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. LVII. 1902.)

—, Studien über fäulniserregende Bakterien des normalen menschlichen Darmes und ihre Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIX. 1905.)

—, Die bakteriellen Hemmungsstoffe Conradis und ihr Einfluß auf das Wachstum der Anaërobier des Darmes. (Wiener klin. Wochenschr. Bd. XIX. 1906. p. 627.)

Pasteur, Mémoire sur la fermentation appelée lactique. (Compt. rend. T. XLV. 1857. p. 913.)

—, Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations. (Ebenda T. LII. 1861. p. 344.)

—, Etudes sur la bière.

Perdrix, Sur les fermentations produites par un microbe anaërobie de l'eau. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. V. 1891. p. 287.)

Perotti, R., Distribuzioni dell'Azobacterio in Italia. (Rend. R. Accad. d. Lincei [5] Vol. XV. fasc. 5. Ref. im Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 264.)

—, Bacterii oligo e mesonitrofili dalla campagna romana. (Ebenda Vol. XIV. Sem. 2. Ref. im Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 523 u. Botan. Centralbl. Bd. CII. p. 225.)

Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. I. 1897.

Piana, G. und B. Galli-Valerio, Sur une variété du Bacterium Chauvoei. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 258.)

Prażmowski, Zur Entwickelung und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. (Botan. Ztg. Bd. XXXVII. 1879. p. 409.)

—, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig (Hugo Voigt) 1880.

Preisz, Ueber das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. p. 209.)

Pringsheim, H., Ueber den Ursprung des Fuselöls und eine Alkohole bildende Bakterienform. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV 1906. p. 300.)

—, Ueber ein stickstoffassimilierendes Clostridium. Ebenda Bd. XVI. 1906. p. 795.)

—, Ueber die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffes und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde. (Ebenda. Bd. XX. 1908. p. 248.).

—, Zur Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens von Clostridien. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXVIa. 1908. p. 547.)

—, Ueber das Sauerstoffbedürfnis anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XXI. 1908. p. 673.)

Puriewitsch, K., Ueber die Stickstoffassimilation bei Schimmelpilzen. (Ber. der Deutsch. Botan. Ges. Bd. XIII. 1895. p. 342.)

Reinitzer, Fr., Ueber die Eignung der Huminsubstanzen zur Ernährung von Pilzen. (Botan. Ztg. 1900. p. 59. (Aus Krzemieniewski 1908.)

Reinke und Berthold, Die Zersetzung der Kartoffeln durch Pilze. (Untersuch. a. d. botan. Laborat. d. Univ. Göttingen 1879.)

Remy, Stickstoffbindung durch Leguminosen. (Verh. d. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil I. p. 221 [Diskussion].)

Rodella, Antonio J., Ueber anaërobe Bakterien im normalen Säuglingsstuhl. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 201.)

—, Ueber anaërobe Mundbakterien und ihre Bedeutung. (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905. p. 329.)

—, Sur la différenciation du „Bacillus putrificus" Bienstock et des bacilles anaérobies tryptobutyriques Achalme. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIX. 1905. p. 804.)

—, Ueber die Bedeutung der streng anaëroben Fäulnisbakterien für die Käsereifung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 52.)

—, I batterii radicali delle leguminose. Studio critico-sperimentale d'alcuni problemi di batteriologia agraria e di fisiopatologia umana. Padova (R. Stab. Prosperini) 1907.

—, I batterii radicicoli delle leguminose. Ebenda 1906.

—, Die Knöllchenbakterien der Leguminosen. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 455.)

Saida, Ueber Assimilation freien Stickstoffes durch Schimmelpilze. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XIX. 1901. Generalvers.-Heft, p. 107—116.)

Salus, G., Zur Biologie der Fäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. LI. 1904. p. 97.)

Sanfelice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893. p. 373.)

Schardinger, Verhalten von Weizen- und Roggenmehl zu Methylenblau und zu Stärkekleister nebst einem Anhange über die Bildung höherer Alkohole durch hitzebeständige Mikroorganismen aus Weizenmehl. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 748.)

Schattenfroh und Grassberger, Ueber neue Buttersäuregärungserreger in der Marktmilch. (Ebenda Bd. V. 1899. p. 209.)

— —, Weitere Mitteilungen über Buttersäuregärung. (Ebenda. Bd. V. 1899. p. 697.)

— —, Ueber Buttersäuregärung. I. Abh. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1900. p. 54—105.) (S. a. **Grassberger**.)

— —, Neue Beiträge zur Kenntnis der Buttersäuregärungserreger und ihre Beziehungen zum Rauschbrand. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. XLVIII. 1901. p. 50.)

Simon, J., Die Widerstandsfähigkeit der Wurzelbakterien der Leguminosen und ihre Bedeutung für die Bodenimpfung. Vortrag, gehalten in der V. Hauptvers. der Vereinigung f. angew. Botan. in Dresden am 10. Sept. 1907.

Stiller, P., Die wichtigsten Bakterientypen der Darmflora beim Säugling. Habilationsschrift. Marburg 1909.

Stoklasa, J., Ueber die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXIV. 1906. p. 22.)

—, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XXI. 1908. p. 484.)

Störmer, K., Ueber die Wasserröste des Flachses. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 171.)

Ternetz, Ch., Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch einen torfbewohnenden Pilz. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXII. 1904. p. 267.)

—, Ueber die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLIV. 1907. p. 353.)

Thiele, R., Die Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffs durch Mikroorganismen. (Landw. Versuchsst. 1905. p. 161.)

van Tieghem, Sur le bacillus amylobacter et son rôle dans le putréfaction des tissus végétaux. (Bull. de la soc. botan. de France. T. XXIV. 1877. p. 128.)

—, Sur la fermentation de la cellulose. (Compt. rend. T. LXXXVIII. 1879. p. 205.)

—, Identité du Bacillus amylobacter et du Vibrion butyrique de M. Pasteur. (Ebenda. T. LXXXIX. 1879. p. 5.)

—, Développement de l'amylobacter dans les plants. (Bull. soc. botan. de France. 1884.)

Tissier, H. et Martelly, Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. 1902. p. 865.)

— et **Gasching, P.**, Recherches sur la fermentation du lait. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903. p. 546.)

Trécul, Matière amylacée et cryptogames amylifères dans les vaisseaux du latex de plusieurs Apocynées. (Compt. rend. T. LXI. 1865. p. 156.)

—, Production de plantules amylifères dans les cellules végétales pendant la putréfaction. (Ebenda. T. LXI. 1865. p. 432.)

Trécul, Réponse à trois notes de M. Nylander concernant la nature des Amylobacter. (Ebenda T. LXV. 1867. p. 513.)

Vageler, P., Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs in Natur und Technik. (Samml. „Die Wissenschaft". Braunschweig [Fr. Vieweg. u. Sohn] 1908.)

Vogel, J., Die Assimilation des freien elementaren Stickstoffes durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. 1905. p. 33.)

Volpino, G., Sopra un interessante microorganismo radunatore l'azoto isolato dal terreno. (Estratto dalla Rivista d'igiene e sanità pnbblica. Vol. XVI. 1905. Ref. im Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 70.)

Warmbold, H., Untersuchungen über die Biologie der stickstoffbindenden Bakterien. Diss. Göttingen 1905. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 1.)

Wehmer, C., Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 696.)

—, Die Bakterienfäule (Naßfäule) der Kartoffelknollen. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. XVI. 1898. p. 172.)

Weigmann, H., Die Buttersäuregärung. (Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. II. 1905. p. 109. Jena [Gustav Fischer].)

Winogradsky, S., Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes. (Compt. rend. T. CXVI. 1893. p. 1385. — T. CXVIII. 1894. p. 353.)

—, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Arch. des sciences biologiques. T. III. 1895. p. 295. [Separatabdruck St. Petersburg 1895].)

—, Clostridium Pastorianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 43. 107.)

—, Sur le rouissage du lin et son agent microbien. (Compt. rend. T. CXXI. 1895. p. 742.)

Wund, M., Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender Bakterienspecies. Diss. Marburg 1906. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XLII. 1906. p. 97.)

Tafelerklärung.

Alle Zeichnungen sind, soweit nichts anderes bemerkt, ausgeführt bei einer Vergrößerung 1:2450 (homogene Immersion $^1/_{12}$; N-Ap. 1,25 von Zeiss, Komp.-Okular 12).

Tafel I. Sämtliche Figuren von Bac. amylobacter.

Fig. 1—20. Sporen des Bac. amylobacter, zum Teil mit, zum Teil ohne Reste der Sporangienmembran (sogenannte Sporenkapsel Winogradskys), bei 19 (Stamm 56 Kamerum) mit den faltig zusammengefallenen Resten der Sporangienmembran völlig umgeben. Die in Fig. 6, 7, 8 dargestellten Sporen sind auf D-Agar nicht häufig, sie finden sich besonders in Winogradskyscher Lösung, alle übrigen Formen kommen auf D-Agar häufig vor. Fig. 4 stellt eine Spore dar (Stamm H, Granulobacter butylicum Beijerinck) welche eine anscheinend körnige Exine besitzt. Vergl. hierzu die pp. 423—434.

Fig. 21—24. Geißelfärbungen (Löffler) an schwärmenden Oidien (21) und Sporangien (23, 24) und sich zur Sporangienbildung anschickenden Oidien (22); die Färbung gelingt nicht unschwer.

Fig. 25—35. Oidien des Bac. amylobacter, man beobachte die außerordentlich verschiedene Dicke. Alles von D-Agar bei 1 mg Sauerstoff und 28° C lebend gezeichnet. Vergl. p. 436.

Fig. 36. Keimende Spore.

Fig. 37. Aus Prażmowski: Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentbildung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880, Tafel II, Fig. 4 Cx., ein Keimungsstadium seines „Clostridium butyricum", bei dem man um die keimende Spore „die noch nicht aufgelöste Mutterzellmembran der Spore" (spätere Sporenkapsel Winogradskys) sieht. Vergl. p. 438.

Fig. 38a—f. Kernfärbung in einem jungen Sporangium. Methylenblau 1 + 10, Vitalfärbung, zeigt das allmähliche Fortschreiten der Färbung. Vergl. p. 442.

Fig. 39—43. Unreife und reife Sporangien. Färbung mit Methylenblau 1 + 10. Vergl. p. 441.

Fig. 44—74. Verschiedene Formen der Sporangien des Bac. amylobacter, wie sie häufiger beobachtet wurden, alle lebend gezeichnet, außer 53, 60, 65, 66—74, welche in Jodjodkali gezeichnet wurden (vergl. p. 437). Die Figuren zeigen die außerordentliche Reichhaltigkeit der Formen der Sporangien normaler gesunder Kulturen (anormale Formen, siehe Taf. II). Die in Fig. 66—74 dargestellten Formen sind am seltensten, sie wurden einige Male bei verschiedenen Stämmen in Winogradskyscher Lösung beobachtet, auch bei Stamm G auf D-Agar bei 15° C. Vergl. p. 449.

Fig. 75—84. Zeigt das Freiwerden der Spore und die Entstehung der „Sporenkapsel“.

Fig. 75: Sporangium kurz vor Auflösung der Membran, enthält noch ein wenig Glykogen. Fig. 76: Die Membran des Sporangiums verquillt zum Teil, das Glykogen tritt körnig heraus.

Fig. 77—83: Entstehung der „Sporenkapsel“ durch Abbrechen des sterilen Teiles der Mutterzelle (65 Stunden alte Kultur), man sieht in den Resten der Sporangiummembran noch reichlich Glykogen, nach weiteren 48 Stunden ist dasselbe verschwunden und man erhält Bilder wie Fig. 18 und 20. Vergl. p. 441.

Fig. 84a—d: Aus Keutner: Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. Wissensch. Meeresunters. Neue Folge. Bd. 8. Vergl. p. 439.

Fig. 85—88. Oidien mit stark lichtbrechenden Inhaltskörpern, die wahrscheinlich von verschiedenen Verff. für Sporen angesehen waren, daher die Angaben über das Vorkommen vieler Sporen in einem Stäbchen. Vergl. p. 437 und 453.

Daß 2 Sporen in einem Sporangium nicht selten sind, zeigen die Fig. 445, 447 und 448.

Tafel II.

A. Der sogenannte „Begleitbacillus“, der in fast allen Rohkulturen in Winogradskyscher Lösung mit dem Bac. amylobacter zusammen in mehr oder minder reichlichem Maße anzutreffen ist. Sporangien mit Jodjodkali gefärbt, verschieden starke Glykogeneinlagerung (s. p. 398).

Alle übrigen Figuren von Bac. amylobacter.

Fig. 1—7. Anormale Formen aus Rohkulturen in Winogradskyscher Lösung. Mit Jodjodkali gefärbt: Meist reichliche Glykogeneinlagerung, auch in Sporangien mit reifen Sporen, so bei Fig. 6, wo die Spore ganz in Glykogen eingebettet ist. Fig. 1—6 sind besonders große Formen von Sporangien, wie sie in Rohkulturen hin und wieder auftreten. Sie ähneln in der Größe dem „Clostridium giganteum“ (höchstwahrscheinlich = Bac. amylobacter) Keutners. Fig. 2—5 sind monströse Formen, bei Fig. 5 findet man an der Spitze einen „Sporenfleck“, zu einer Ausbildung einer Spore kommt es aber in diesem Individuum nicht.

Fig. 8—16. Formen der Originalkultur, Stamm J („Granulobacter pectinovorum“ Beijerinck und van Delden) und zwar Fig. 8—15 Formen der „abgeschwächten“ Kultur vor ihrer Kräftigung (s. p. 407). Fig. 8—12 in Jodjodkali, die übrigen ungefärbt lebend. Sämtliche Formen stellen in der Entwickelung stehen gebliebene Sporangien dar, in denen die Sporen nicht zur Reife gelangen. Man findet an Stelle derselben eine glanzlose Partie, meist mit einer Membran deutlich von dem übrigen Teile abgegrenzt (9, 10, 11, 15), oft auch nicht (8, 12), oder undeutlich (13). — Vergl. hierzu die Abbildungen (Photographieen) Beijerincks und van Deldens in Arch. Néerland. S. II. T. IX. p. 418 —. Fig. 14 ist eine aus solchen Formen bisweilen hervorgehende unreife freie Spore mit anhängenden Sporangienmembranresten. Dieselbe ist anormal groß, blaß und glanzlos, Exine und Intine sind allerdings auch an solchen „unreifen“ freien Sporen deutlich sichtbar. Fig. 16 stellt eine normale reife und gesunde Spore vor.

Fig. 17. Eine sehr vielgliederige Kette, wie sie selten beobachtet wird. Jodjodkali, geringe Glykogenspeicherung. Das Bild ist gezeichnet von Stamm A („Clostridium Pasteurianum“) in einer Nährlösung, bestehend aus Omelianskischer mineralischer Lösung + 0,05 Proz. Ammoniumsulfat mit Zusatz von Hemicellulose (gepulverte Dattelkerne). In der betreffenden Lösung wurden Ketten von 100 und mehr Gliedern gefunden.

Fig. 18—21. Anormale Formen gewachsen in einer Nährlösung bestehend aus mineralischer Nährlösung nach Arthur Meyer + 0,3 Proz. Pepton und 2 Proz. Dextrose bei 1 mg Sauerstoff im Liter und Zimmertemperatur; 4 Wochen alte Kultur des Stammes B („Clostridium americanum“). Die Kultur bestand aus meist langen, mitteldicken unseptierten Fäden, die oft an einem Ende angeschwollen waren; in diesen Anschwellungen lagen meist keine (Fig. 18 und 21) Sporen, nur selten waren in ihnen Sporen vorhanden

(Fig. 20). Die Sporen waren auch nicht selten an dem entgegengesetzten Ende der Anschwellung ausgebildet (Fig. 19). Gezeichnet in Jodjodkali: keine Glykogenspeicherung. Neben diesen abnormen Formen fanden sich in derselben Kultur auch häufig freie reife Sporen, die oft, was sonst beim Stamme B im allgemeinen selten ist, große Reste der Sporangienmembran (große „Sporenkapsel") an sich trugen (s. Taf. I, Fig. 18).

Fig. 22—30. Verschiedene abnorme Formen, wie sie in derselben Nährlösung (s. Fig. 18—21) beobachtet wurden. Fig. 22—28: Stamm C („Clostridium α"), Fig. 29—30: Stamm D („Clostridium β"). Neben diesen abnormen Formen kamen auch ganz normale vor. Jodjodkali: kein Glykogen. Fig. 31: ein Sporangium mit eigenartig liegender Spore, wie es bei den verschiedenen Stämmen in verschiedenen Nährlösungen und auch bisweilen auf D-Agar hin und wieder beobachtet werden kann. Ungefärbt.

Fig. 32a—i. Stamm E („Bac. amylobacter I," Gruber) 42 Stunden alte Kultur auf D-Agar bei 1 mg Sauerstoff und 40° C. Neben normalen Morphoden finden sich die hier abgebildeten reichlich vor. a ist ein nicht zur Ausbildung gelangtes Sporangium, ähnlich der Fig. 18, 29 und 30; bei b sieht man ein ähnliches Gebilde, welches in „Mikrooidienzerfall" begriffen ist, die kurzen Glieder schnüren sich an einem Ende ab. Die übrigen Zeichnungen stellen solche Mikrooidien in verschiedener Form und Größe vor, man bemerkt sehr kleine (m und c) und relativ große (f), einige sind noch in Teilung begriffen (c und i), vereinzelte auch eigenartig eingeschnürt (h). Alles in Jodjodkali: kein Glykogen.

Fig. 33a—c. Stamm D („Clostridium β") Mikrooidien, entstanden in einer Nährlösung, bestehend aus mineralischer Lösung nach Arthur Meyer + 0,3 Proz. Pepton und 2,0 Proz. Dextrose nach 8-tägigem Wachstum bei 1 mg Sauerstoff und Zimmertemperatur. Man beachte die außerordentlich kurzen Glieder bei b und die anscheinende Teilung nach zwei Richtungen des Raumes bei a. In Jodjodkali: kein Glykogen. Vergl. auch unten bei Fig. 36.

Fig. 34. Mikrooidien von Stamm 56 Kamerun, in derselben Nährlösung gezüchtet. Mit Jodjodkali gefärbt: einige Zellen sind ganz mit Glykogen vollgestopft, andere nur zum Teil und wieder andere haben kein Glykogen gespeichert.

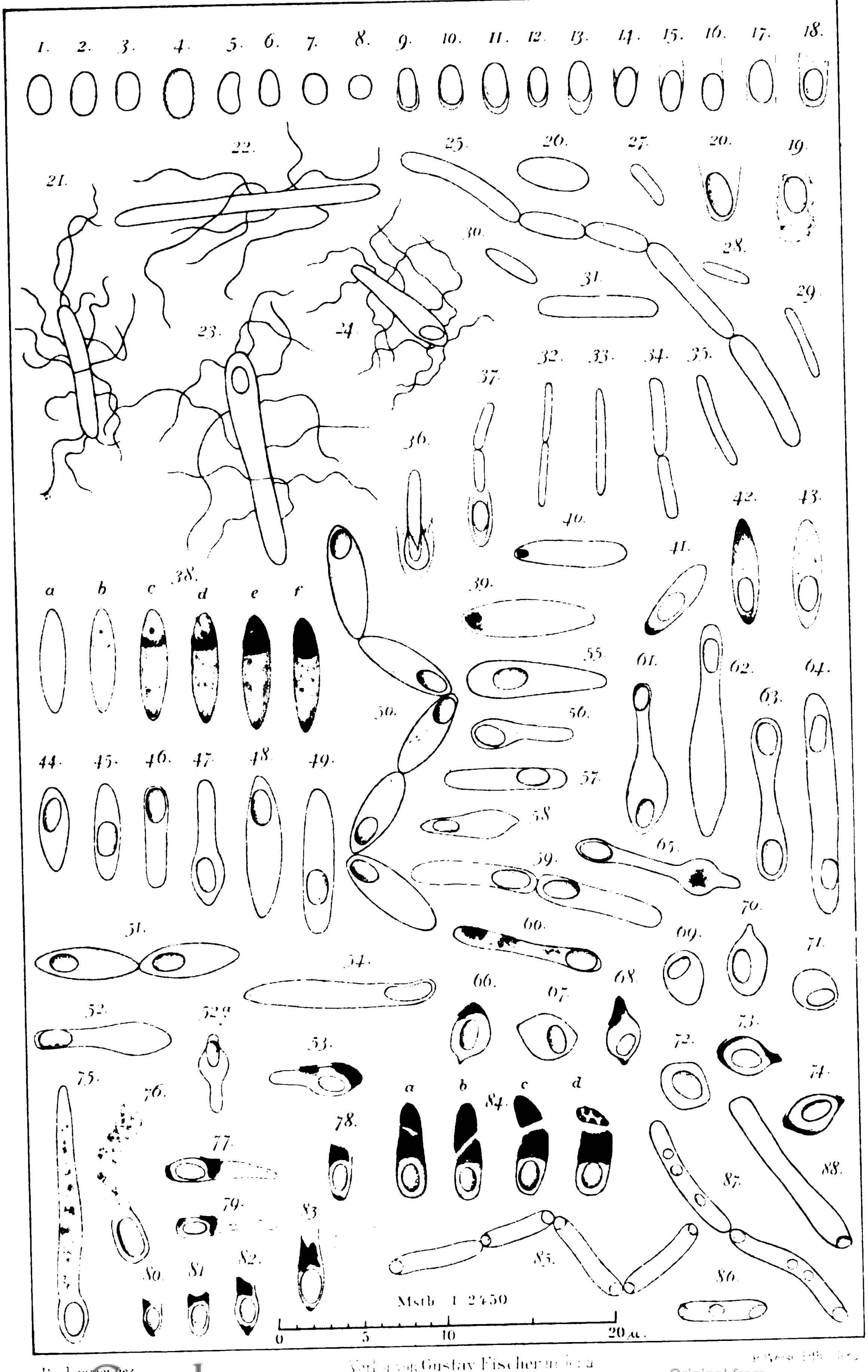
Fig. 35. Sehr winzige Mikrooidien, beobachtet beim Stamme 92 (Kiautschou) in derselben Nährlösung. Jodjodkali.

Fig. 36a—f. Mikrooidien beobachtet beim Stamme G (Gasphlegmone) in derselben Nährlösung, aërob gewachsen, 8 Tage alte Kultur bei 28° C. Man sieht wieder die sehr stark verschiedenen Größen und die anscheinende Teilung nach zwei Richtungen des Raumes in einigen Zellen (a, b, c), bei d* eine Micrococcus-ähnliche Form, die den Anschein erweckt, als sei sie aus einer solchen Teilung nach zwei Richtungen des Raumes entstanden. Jodjodkali. (Vergl. zu Fig. 32—36 die pp. 444—447 „Mikrooidien".)

Fig. 37a—f. Sporangien, die in dem „Sporenfleck" ein Glykogenkorn zeigen. Jodjodkali. Bei 37a sieht man ein normales Sporangium mit reifer scharf abgegrenzter Spore ohne Glykogeneinlagerung vereinigt mit einem Sporangium, das in dem „Sporenfleck", in dem übrigens keine glänzende, scharf abgegrenzte Spore liegt, ein Glykogenkorn eingelagert, enthält. Bei g sieht man in dem „Sporenfleck" das Glykogen nicht körnig, sondern in geringem Maße diffus abgelagert. Vergl. p. 443.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 27. Mai 1909.

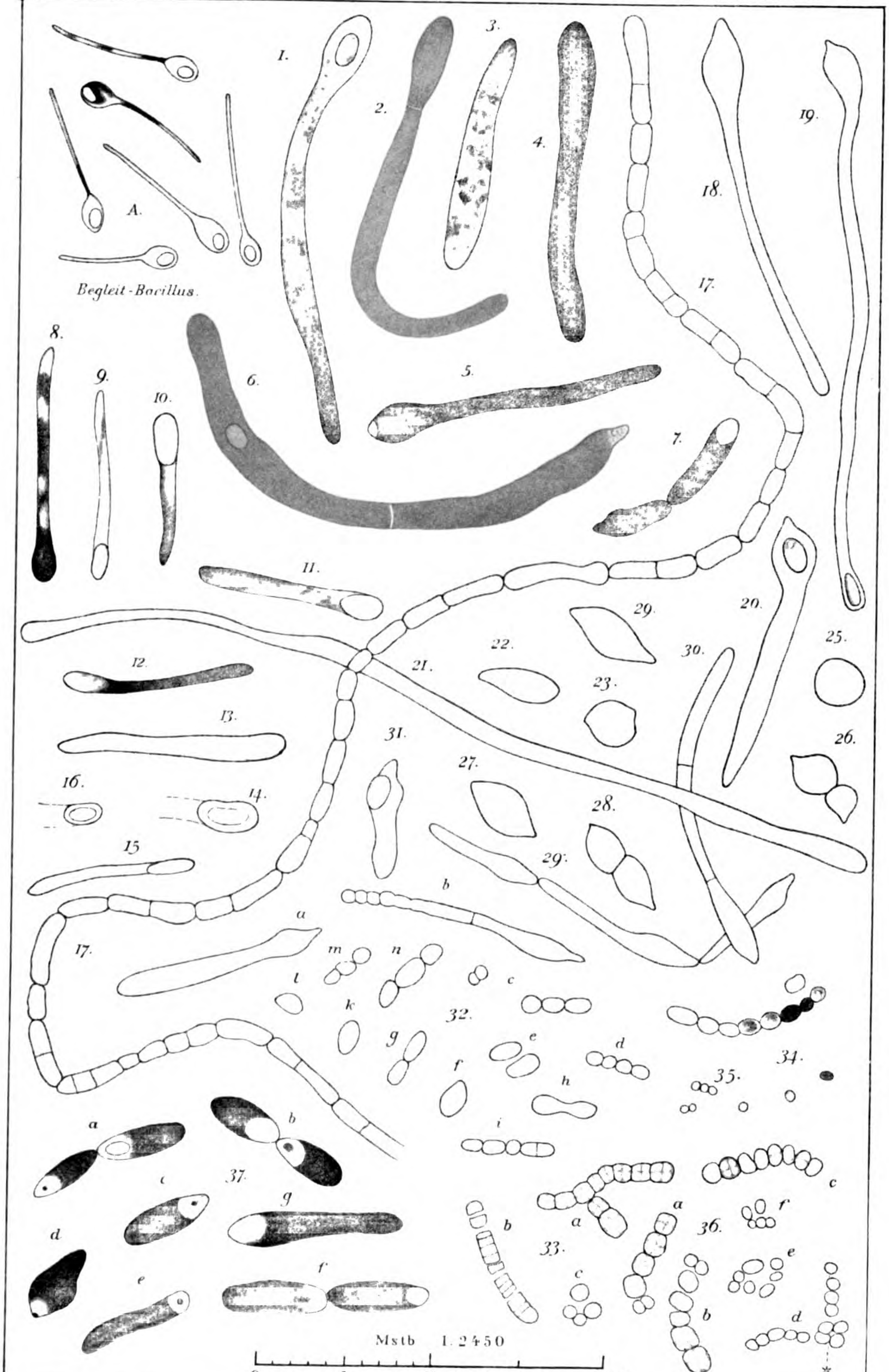

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
38.
a
b
c
d
e
f
39.
40.
41.
42.
43.
44.
45.
46.
47.
48.
49.
50.
51.
52.
52a.
53.
54.
55.
56.
57.
58.
59.
60.
61.
62.
63.
64.
65.
66.
67.
68.
69.
70.
71.
72.
73.
74.
75.
76.
77.
78.
79.
80.
81.
82.
83.
84.
a
b
c
d
85.
86.
87.
88.
Mstb. 1:2450
0
5
10
20 μ.

Bredemann gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. XXIII.

Bredemann, Bacillus Amylobacter A. M. et Bredemann. Taf. II.


A.
Begleit-Bacillus.
1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
25.
26.
27.
28.
29.
29'.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
a b c d e f g h i k l m n
Mstb 1:2450
0 5 10 20 μ
*

Bredemann gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 21/25.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Bakterienzahl im Ackerboden in ihrer Abhängigkeit von äusseren Einflüssen.

Von **Diedrich Engberding.**

Mit 4 Kurven im Text.

Einleitung.

Wie die Bakteriologie erst durch die Entdeckung der Gelatineplattenkultur durch Robert Koch den Anstoß zu ihrem gewaltigen Aufschwunge erhalten hat, so datiert auch erst von diesem Zeitpunkte an eine gründlichere Kenntnis von der Verbreitung der Bakterien im Erdboden. Robert Koch selbst fand die Berliner Böden zu jeder Zeit sehr reich an Bakterien. Andere Autoren, namentlich medizinische, haben das ausgedehnte Vorkommen dieser Organismen im Boden bestätigt. Am eingehendsten hat von ihnen wohl Fraenkel[1]) die Frage untersucht; er stellte fest, daß die Bakterien mit zunehmender Bodentiefe an Zahl abnehmen.

Die Kenntnis von dem reichen Vorkommen dieser Kleinlebewesen im Boden, sowie die große Bedeutung, welche man in landwirtschaftlichen Kreisen den durch dieselben veranlaßten Umsetzungen, in erster Linie der Assimilation des freien atmosphärischen Stickstoffes durch Knöllchenbakterien unter der Mitwirkung der Leguminosen, zuschrieb, regten dazu an, auch im landwirtschaftlichen Interesse die Verbreitung dieser Mikroorganismen im Boden zu erforschen. Zuerst trat Caron[2]) mit seinen nach dieser Richtung hin ausgeführten Versuchen an die Oeffentlichkeit. Er glaubte eine günstige Wirkung der Bakterien auf das Wachstum der höheren Pflanzen festgestellt zu haben, und machte außerdem darauf aufmerksam, daß die verschiedenen Feldfrüchte auf die Menge der Keime im Ackerboden von Einfluß sind.

Die Mitteilungen Carons haben auch in wissenschaftlichen Kreisen teilweise großen Eindruck gemacht und zu Untersuchungen die Anregung gegeben, die sich in verschiedenen Richtungen bewegt haben. Die Frage nach der Verbreitung der Bakterien im Ackerboden unter den verschiedenen Verhältnissen haben besonders Remy, Hiltner und Störmer, Löhnis, Krüger und Heinze u. a. bearbeitet. Wie aus den Arbeiten dieser Autoren hervorgeht, ist aber bis jetzt mit Hilfe der üblichen Methoden der Bakterienzählung nur sehr wenig erreicht worden. Es ist zwar bekannt, daß in jeder Gewichtsmenge eines gleichbehandelten, gleichartigen Ackerbodens sich ungefähr eine gleiche Menge Bakterien feststellen läßt. Weiter haben aber fortgesetzte Untersuchungen in der Hauptsache nur ergeben, daß Stallmistdüngung, Stroh und Gründüngungssubstanzen ebenso wie Schwefelkohlenstoff die Vermehrung dieser Organismen begünstigen, und daß in einem Boden, der durch eintretende Dürre staubtrocken wird, die Bakterienzahl stark heruntergeht. Ueber den Einfluß, den geringe Schwankungen im Wassergehalte des Bodens hervorrufen, herrscht noch beinahe vollkommene Unkenntnis.

---

[1]) Fraenkel, C., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. II. 1887. p. 536 ff.
[2]) Caron, A., Landw. Versuchsstat. Bd. XLV. 1895. p. 401.

Die Untersuchungen über die Wirkung anderer physikalischer Faktoren haben sogar manchmal zu ganz entgegengesetzten Resultaten geführt. So haben Hiltner und Störmer[1]) eine Abnahme der Bakterienzahl durch Brachebearbeitung gefunden; Krüger und Heinze[2]) wie schon Caron dagegen eine erhebliche Zunahme. Eine Einwirkung der Temperatur konnten Hiltner und Störmer im gewöhnlichen Ackerboden nicht feststellen; nach Fabricius und v. Feilitzen[3]) läuft in dem von ihnen untersuchten Boden die Zahl der Bakterien der Bewegung der Bodentemperatur parallel.

Daß wir über die Wirkung verschiedener Faktoren auf die Menge der Keime im Boden so wenig wissen, liegt nach Behrens[4])[5]) und Löhnis[6]) an der Ungenauigkeit der allgemein gebräuchlichen Plattenzählmethode. Die beiden Autoren kommen zu dem Ergebnisse, daß die Zahl der Bakterien im Boden sich auch nicht nur annähernd feststellen läßt. Sie gehen noch weiter, denn es erscheint ihnen sogar fraglich, daß selbst die Zahl der auf den üblichen Nährböden wachsenden Keime durch die Plattenzählmethode einigermaßen genau ermittelt wird. Behrens nimmt daher an, daß Zählungen uns eine richtige Vorstellung von dem Bakterienleben im Boden nicht verschaffen können.

Es sind nun nicht nur gegen die Methode der Zählung Bedenken geltend gemacht worden; durch verschiedene Autoren ist auch die Meinung zum Ausdruck gekommen, daß es doch ziemlich wertlos sei, die Zahl der Bakterien im Boden zu kennen, da auch unter Umständen schon eine geringe Menge dieser Bodenbewohner eine relativ große Wirksamkeit entfalten könne. Löhnis[7]) hat in diesem Zusammenhange besonders auf die Untersuchungen Marchals[8]) hingewiesen, welche die großen Differenzen in dem Vermögen der Bakterien, Eiweiß zu zersetzen, dartun, ferner auf die großen Unterschiede namentlich Harnstoff zersetzender Lebewesen in der Fähigkeit, kohlensaures Ammoniak zu bilden.

Aehnliche Gedanken leiteten wohl auch Remy[9]), als er die Untersuchungen in Angriff nahm, mit Hilfe von Umsetzungsversuchen in Lösungen sowohl die „Qualität“ als auch die „Quantität“ der zu einer Mikroorganismengruppe „gehörigen Arten und Individuen“ zu messen.

Namentlich Löhnis[10]) hat die Resultate solcher Umsetzungsversuche mit denen von Bakterienzählungen verglichen und dabei festgestellt, daß die auf beiden Wegen ermittelten Werte oft nicht in der gleichen Richtung liegen. Daß die Ergebnisse von Bakterienzählungen Schlüsse auf die Leistungen der Mikroorganismen im Boden nicht zulassen, läßt sich aus diesen Untersuchungen nicht ableiten. Denn ebenso wie die von allen Bakterien einer Kultur hervorgebrachte Leistung hängt auch die Leistung der Bakterien im Ackerboden nicht nur von der Zahl und nicht nur von der Leistungsfähigkeit der einzelnen Bakterienzelle ab, sondern ist eine Funktion beider. Bei dem Umsetzungsversuch nach Remy wird man

---

[1] 1) Hiltner und Störmer, Mitteil. a. d. biolog. Abt. am Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. III. 1903. p. 445.

[2] 2) Krüger und Heinze, Landw. Jahrb. Bd. XXXVI. 1907.

[3] 3) Fabricius und v. Feilitzen, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905.

[4] 4) Behrens, J., Mitteil. d. d. Landw. Gesellsch. 1904. Stück 26.

[5] 5) Behrens, J. in Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 439.

[6] 6) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 1 ff.

[7] 7) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. p. 264.

[8] 8) Marchal, Agric. Science. Vol. VIII. 1894. p. 574; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 753.)

[9] 9) Remy, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. p. 732 ff.

[10] 10) Löhnis, l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

infolge der großen Aussaatstärke wahrscheinlich vorwiegend nur den zweiten Faktor fassen. Deshalb hat es nach wie vor Interesse zu prüfen, inwieweit sich überhaupt mit Hilfe der Bakterienzählmethoden, die gewiß, wie es Behrens und Löhnis anführen, viele Mängel haben, die Beeinflussung der Bakterienzahl durch äußere Umstände nachweisen läßt.

Wir stellten uns daher die Aufgabe, den Einfluß verschiedener physikalischer und chemischer Faktoren auf die Zahl der Bakterien im Ackerboden zu untersuchen. Physikalische Faktoren, deren Einfluß wir geprüft haben, sind die Bodenfeuchtigkeit, die Temperatur und die Bodenbearbeitung. Von den chemischen Faktoren kamen zur Untersuchung die Wirkung einer Reihe von organischen Substanzen, wie Zucker, Stroh, Gründüngungssubstanzen, Jauche; ferner der Einfluß mineralischer Düngemittel, wie N, K_2O, CaO, MgO und P_2O_5. — Bevor wir in die Erörterung dieses Hauptthemas unserer Arbeit eintreten, behandeln wir die Methodik der Bakterienzählung und untersuchen ihre Fehlergrenzen. Später werden wir auch noch einige mit Hilfe der Remyschen Methode gewonnene Ergebnisse mit den Resultaten einiger Zählversuche vergleichen.

I. Teil.

Die Methodik der Bakterienzählung.

§ 1. Allgemeines über die Zählmethoden.

Heutzutage hat man bekanntlich eine ganze Reihe von Bakterienzählmethoden. Das ist bei der großen Bedeutung, welche man der größeren oder geringeren Verbreitung der Bakterien in ihren natürlichen Wohnorten für viele Zwecke beimißt, und bei der Unvollkommenheit der einzelnen Zählverfahren nur natürlich. Die allgemeinste Anwendung hat die alte Kochsche Plattenzählmethode gefunden. Auch wir haben uns vorwiegend des Plattenverfahrens bedient, das trotz seiner Unvollkommenheit für viele Zwecke sehr große Vorzüge vor den anderen vorgeschlagenen Methoden besitzt. Ausführlicher haben wir dieses Verfahren später besprochen. Hier sei erwähnt, daß in neuester Zeit namentlich Hiltner und Störmer[1]), Remy[2]), ferner Thiele[3]), Maassen und Behn[4]), sowie Krüger und Heinze[5]) dasselbe bei Bakterienzählungen im Boden benutzt und es weiter ausgearbeitet haben, und daß wir im Prinzip ebenso wie die genannten Autoren verfuhren: Wir gingen von einem Gewichtsteile eines entsprechend vorbereiteten Bodens aus, impften diesen in eine bestimmte Menge Verdünnungswasser und brachten einen Teil der so erhaltenen Aufschwemmung zur Aussaat in die Zählplatte. Dieser schloß dann die einer bekannten Gewichtsmenge eines Bodens entsprechende Bakterienzahl in sich. In die Zählplatte übertrugen wir darauf den gelatinierenden Nährboden und hoben sie so lange auf, bis die entwickelungsfähigen Bakterien zu Kolonieen herangewachsen waren. — Da sich die Zellvermehrung der Bakterien auf den Platten bei Luftzutritt abspielt, so können die anaërobiotischen Bakterien auf der

---

[1]) Hiltner und Störmer, l. c.

[2]) Remy, l. c.

[3]) Thiele, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 251.

[4]) Maassen und Behn, Mitteil. a. d. biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch. 1906. Heft 4.

[5]) Krüger und Heinze, l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Gelatine nicht zu Kolonieen heranwachsen. Ebenso werden natürlich sämtliche in den üblichen Nährböden nicht gedeihenden Organismen nicht mitgezählt, wie z. B. die nitrifizierenden und die N-bindenden Bakterien. Das Ausbleiben der Entwickelung der anaërobiotischen Bakterien, welche im Ackerboden zum Teil die gleichen oder ähnliche Funktionen wie andere auf den Nährböden wachsende Arten ausüben, kann man als einen Mangel der Zählmethode ansehen. Dieser könnte allerdings wettgemacht werden, wenn die Zahl der aërobiotischen, auf den Platten wachsenden Keime stets annähernd im gleichen Verhältnisse steht zu der Menge der bei Luftabschluß sich entwickelnden.

Nicht in Betracht kommen für uns das Bakterienzählverfahren von A. Klein[1]), das auf der Zählung der vorher gefärbten Bakterien beruht, und dasjenige von J. Strassburger[2]), der diese Organismen wägt. Beide Methoden sind bis jetzt nur bei der Untersuchung von Faeces benutzt worden. Für unsere Zwecke sind sie auch deshalb nicht geeignet, weil auch die abgestorbenen Bakterien berücksichtigt werden.

Mehr Interesse würde es beanspruchen, wie Miquel[3]) die Bakterien des Bodens zählt. Seine Methode ist aber sehr ungenau. Sie ähnelt der sogenannten Verdünnungsmethode von Hiltner und Störmer; das Hiltner-Störmersche Verfahren unterscheidet sich aber von dem Miquelschen dadurch, daß Hiltner und Störmer im Gegensatz zu Miquel sich schon der Methode der elektiven Kultur bedienen.

Die Verdünnungsmethode von Hiltner und Störmer ist auf jeden Fall beachtenswert. Sie soll gestatten, die Zahl der Bakterien, welche an gewissen Umsetzungen im Boden beteiligt sind, z. B. die Zahl der harnstoffvergärenden, der pektinvergärenden, der denitrifizierenden Bakterien usw. festzustellen. Dabei wird zunächst eine bekannte Gewichtsmenge Boden in einem bestimmten Quantum sterilisierten Wassers aufgeschwemmt und darin gleichmäßig verteilt. Alsdann werden abgemessene Teile der Aufschwemmung in eine Reihe von Kolben oder Röhrchen geimpft, die passende Nährlösungen enthalten. Die überzuimpfenden Flüssigkeitsmengen werden ungefähr so groß gewählt, daß voraussichtlich nur ein Teil der Kolben bezw. Röhrchen mit den betreffenden Bakterien infiziert wird. Nach Ablauf kürzerer oder längerer Zeit werden die Nährlösungen daraufhin untersucht, ob in ihnen Umsetzungen eingetreten sind, bezw. ob eine Vermehrung der Bakterien stattgefunden hat. — Wir haben diese Methode bei unseren Untersuchungen nur in beschränktem Umfange benutzt und verweisen bezüglich der Fehlerquellen auf andere Stellen dieser Arbeit.

§ 2. Die verschiedenen bei Bakterienzählungen benutzten Nährböden und ihr Einfluß auf das Resultat.

Das Resultat einer Bakterienzählung nach der Plattenmethode wird natürlich in hohem Grade von dem Nährboden bestimmt. Selbst nach gleicher Vorschrift hergestellte Nährböden können infolge schwankender Zusammensetzung der zu ihrer Herstellung benötigten Substanzen Abweichungen bedingen. Durch außerordentliche Verschiedenheiten in der Zusammensetzung und in ihrer Einwirkung auf die Entwickelung der

---

1) Klein, A., Arch. f. Hyg. Bd. XLV. 1902. p. 117.

2) Strassburger, J., Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XL. 1902.

3) Miquel, Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an. 1882. Ref. in Lafar, Techn. Mykologie. Bd. III.

Bakterien zu Kolonieen ist gerade die zu Bakterienzählungen gewöhnlich benutzte Bouillongelatine ausgezeichnet. Bei der Durchführung einer größeren Reihe von Parallelversuchen oder von periodischen Versuchen ist man daher genötigt, stets die gleiche Gelatine und die gleiche Bouillon zu verwenden. Das ist natürlich sehr lästig, und man versuchte insbesondere für Wasseruntersuchungen andere Nährböden ausfindig zu machen, deren Zusammensetzung eine konstante ist, und die dabei einen möglichst großen Teil der Bakterien zur Vermehrung und Kolonieenbildung kommen lassen. Hesse und Niedner[1] glaubten bei ihren Wasseruntersuchungen ein solches Medium in ihrem sogenannten Nähragar, bestehend aus

12,5 g Agar-Agar,
7,5 „ Albumose (Nährstoff Heyden),
1,0 l Aq. dest.

gefunden zu haben. Andere Autoren bestätigten die Vorzüge dieses Nährbodens; es wurden jedoch auch Bedenken gegen dessen Verwendung geltend gemacht. Wir bezeichnen im folgenden diesen Nährboden als Heyden-Agar.

Uns interessierte zunächst nur ein Nährboden, der auch von anderen Autoren benutzt worden war und sich dabei als brauchbar erwiesen hatte. Wünschenswert erschien es uns allerdings, wenn sich darauf eine möglichst große Zahl der im Boden vorkommenden Bakterien zu Kolonieen entwickelte. Es kam vorerst nur ein Gelatinenährboden in Betracht. Wir verwendeten Bouillongelatine; erzielten jedoch bei der Benutzung verschiedener Gelatinesorten in manchen Fällen nur ein spärliches Wachstum. Das trat recht deutlich hervor, wenn wir neben Bouillongelatineplatten auch Platten mit Bouillonagar (1,25 Proz. Agar) und Heyden-Agar herstellten. So waren beispielsweise bei einem Versuche mit Boden herangewachsen auf:

Bouillongelatine	2	Kolonieen	(Mittel	von 4	Parallelen)
Bouillonagar	39	„	„	„ 3	„
Heyden-Agar	99	„	„	„ 5	„

Bakterien aus frischer Milch entwickelten sich dagegen sehr reichlich in dem Bouillongelatinenährboden. Zur Zählung der in der Milch vorkommenden Keime schien dieser demnach nicht ungeeignet zu sein.

Heyden-Gelatine und Bodenextraktgelatine ergaben zum Teil ebenso schlechte Resultate wie Bouillongelatine. Die größten Plattenwerte erhielten wir mit zwei Gelatinesorten, welche von uns kurz vor dem Abschlusse unserer Versuche geprüft wurden:

	Gelatine (schwach alkalisch). Sorte				Agar	
	I		II			
	Kolonieen pro Platte	Mittel	Kolonieen pro Platte	Mittel	Kolonieen pro Platte	Mittel
Bouillon-	38	38,5	47	40,7		
	29		53			
	23		42			
	64		31			
			30			
Heyden-	76	98	106	111	143	146,5
	100		79		142	
	103		135		146	
	113		128		136	
			108		161	
					151	

Die Aussaatmenge pro Platte betrug stets $^1/_{100}$ mg.

---

[1] Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hyg. Bd XXIX; Ref. A. Kochs Jahresbericht. Jahrg. IX. 1898.

Die Fleischpeptonbouillongelatine stand in diesem Versuche der Heyden-Gelatine und dem Heyden-Agar ganz bedeutend nach. Heyden-Agar ergab der Heyden-Gelatine gegenüber noch um ein Drittel höhere Bakterienzahlen.

Worauf das schlechtere Wachstum der Bakterien auf den Gelatinenährböden gegenüber Heyden-Agar zurückzuführen ist, ist noch nicht mit Sicherheit festgestellt.

Da schweflige Säure in der Technik zur Farblosmachung der Gelatine benutzt wird, so lag die Vermutung nahe, daß dieses Desinficiens die nachteilige Erscheinung hervorrufe. Nach unseren Untersuchungen ist es jedoch nicht dafür verantwortlich zu machen. Denn einmal fanden sich in zwei von uns nach einer von Padé[1]) angegebenen Methode untersuchten Gelatinesorten nur sehr geringe Mengen von schwefliger Säure, nämlich nur 0,014 g bezw. 0,016 g SO_2 in 100 g trockener Gelatine, d. h. im Durchschnitt 0,0015 g in 100 ccm 10-proz. Gelatine; dann zeigten Versuche, daß selbst das siebzehnfache Quantum dieser SO_2-Menge in der Gelatine nicht eine schädliche Wirkung auf die Bakterien hat. Wir setzten bei den betreffenden Versuchen zu Heyden-Gelatine (10-proz. Gelatine) 0,026 Proz. SO_2 zu; nach dem Zusatze neutralisierten wir die Gelatine sofort mit Soda und machten sie schwach alkalisch (zu 1 l Gelatine 10 ccm einer 15-proz. Sodalösung). Bei einer Impfmenge von $^1/_{100}$ mg Boden pro Platte ergaben sich dann folgende Kolonieenzahlen:

Heyden-Gelatine ohne Zusatz		Heyden-Gelatine mit 0,026 Proz. SO_2	
75	Mittel 73 Kol.	89	Mittel 70,7 Kol.
66		57	
82		63	
92		83	
45		70	
78		62	

Eine andere Erklärung der so verschiedenen mit Bouillongelatine und Heyden-Agar erzielten Resultate ermöglicht die Annahme von Hesse und Niedner[2]), daß die Gegenwart wechselnder Mengen von organischen Zersetzungsprodukten in der Gelatine das Wachstum zahlreicher Bakterienarten verschieden beeinflussen kann. Es sei auch erwähnt, daß nach Hesse und Niedner bei der quantitativen Bestimmung von Bakterien in Flüssigkeiten von unbekannter bakterieller Beschaffenheit den Agarnährböden vor dem Gelatinenährboden stets der Vorzug gebührt. Wenn andere Autoren auf der Gelatine die gleiche Anzahl von Kolonieen sich entwickeln sahen, so bedeutet das nach der Ansicht der genannten Autoren weiter nichts, als daß eine ganze Reihe von Bakterien, namentlich pathogene Arten, in der Nährgelatine ebenso gut wächst wie in dem Heyden-Agar, und daß solche Keime, wie z. B. Bacterium coli, in der betreffenden Flüssigkeit vorherrschen. Treten diese zurück, so soll bei Wasseruntersuchungen der Heyden-Agar der Bouillongelatine stets bedeutend überlegen sein.

Unsere Erfahrungen mit Gelatinenährböden zeigen jedenfalls, daß die Verwendung dieser Medien sehr große Vorsicht erfordert. Wie sehr, abgesehen von der verschiedenen Tauglichkeit der Gelatine oder der un-

---

1) Padé, Bestimmung der schwefligen Säure in Nahrungsmitteln und besonders in Gelatine. (Ref. im Chem. Centralbl. Bd. II. 1908. p. 903; Orig. Annal. chim. analyt. appl. T. XIII. p. 299—301.)

2) Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIII. 1906.

gleichen Beschaffenheit der Fleischpeptonbouillon, allein Schwankungen im Alkalinitätsgrad das Resultat der Zählung beeinflussen können, zeigen die folgenden, von M. Dahmen[1]) stammenden Zahlen:

Natriumkarbonat in der Gelatine	0,1047 Proz.	Keime pro 1 ccm Wasser	122
„ „ „ „	0,1142 „	„ „ 1 „ „	189
„ „ „ „	0,1237 „	„ „ 1 „ „	262
„ „ „ „	0,1332 „	„ „ 1 „ „	553
„ „ „ „	0,1428 „	„ „ 1 „ „	672
„ „ „ „	0,1523 „	„ „ 1 „ „	687
„ „ „ „	0,1618 „	„ „ 1 „ „	680

Der Heyden-Agar braucht dagegen nicht neutralisiert und dann schwach alkalisch gemacht zu werden; er wird ohne eine derartige Manipulation verwendet. Uebereinstimmende Resultate erzielten wir auch, wenn wir Nährstoff Heyden benutzten, den wir zu verschiedenen Zeiten bezogen hatten.

Gelatinenährböden haben dann noch den Nachteil gegenüber den Agarnährböden, daß das Auftreten verflüssigender Kolonieen oft recht störend wirkt. Die fortwährende Kontrolle der Platten und die gleichzeitige Anwendung des Silbernitratstiftes zur Abtötung von Kolonieen ist recht umständlich und erscheint auch bedenklich.

Da Heyden-Agar jedenfalls sicherere Resultate gibt als Gelatine, und bei seiner Verwendung auch weniger Bakterien der Zählung entgehen, so wendeten wir unser Interesse den Agarnährböden zu. Daß Bouillonagar sich nicht so gut für unsere Zwecke eignet wie Heyden-Agar, geht aus schon früher gemachten Angaben (vgl. p. 573) hervor. Die Resultate der weiteren Versuche mit verschiedenen Agarnährböden sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben:

Aussaatmenge pro Platte $^1/_{100}$ mg.

Nährboden	Arithmetisches Mittel der Kolonieenzahlen auf den einzelnen Platten	Relative Zahlen
Heyden-Agar	112,8	100
Bodenextraktagar (Bodenextrakt nach Remy)	48,3	42,8
Heyden-Agar	113	100
Mannitagar (nach Beijerinck)	62,5	55,1
Hefewasseragar	35,5	31,4
Kohlextraktagar	13,8	12,2

Heyden-Agar zeigt sich also auch den anderen von uns benutzten Agarnährböden bedeutend überlegen. Wir prüften daher näher, ob seiner Verwendung Bedenken entgegenstehen.

Als einen Nachteil der Agarnährböden heben Hiltner und Störmer das Wanderwachstum einiger Kolonieen auf der Oberfläche des Agars hervor. Dies machte sich ebenfalls bei unseren Versuchen mit Bouillonagar, Kohlextraktagar und Hefewasseragar sehr stark geltend. Auf Heyden-Agar haben wir dasselbe nur ausnahmsweise bemerkt. Es handelte sich dann meist um fadenbildende Bakterien.

Hiltner und Störmer weisen weiter auf die Gefährdung der Agarplatten durch Ausscheidung von Wasser aus dem Nährboden hin. Bei der Verwendung von Heyden-Agar tritt eine wesentliche Kalamität

---

1) Dahmen, M., Chem.-Ztg. Bd. XVI. 1892. p. 861, zit. nach Lafar, Techn. Mykologie. Bd. III. p. 337.

nicht hervor, wenn, wie Hesse und Niedner[1]) dies empfohlen haben, die Petri-Schalen nach dem Erstarren des Nährbodens behutsam so umgekehrt werden, daß die größere leere Schale unten liegt. Um das Aneinanderkleben der beiden Schalen durch Albumose zu verhüten, welche aus dem Nährboden austritt, ist es noch notwendig, einen Papierstreifen oder Drahthäkchen zwischen die beiden Platten zu klemmen. Alsdann liegt auch nicht die Gefahr des Abschlusses der Außenluft vor.

Auf dem Heyden-Agar erschwerte uns namentlich in der ersten Zeit eine Erscheinung das Zählen der Kolonieen, die sich darin äußert, daß in einem Umkreise von 1 qcm und darüber anscheinend lauter kleine Bakterienkolonieen dicht nebeneinandergelagert sind. Die Beobachtung mit dem Mikroskop läßt erkennen, daß die kleinen Kolonieen mehr oder weniger die gleiche Form haben. In seltenen Fällen liegen dem Aussehen nach gleiche Kolonieen auch weiter auseinander und bedecken dann größere Partieen der Zählplatte. Die gleiche Form der Kolonieen spricht dafür, daß sie von Bakterien einer Art gebildet worden sind. Unserer Ueberzeugung nach ist das Entstehen eines solchen Kolonieenschwarmes auf die Bildung von Ausläufern aus einer einzelnen Kolonie zurückzuführen. Unter dieser Voraussetzung zählten wir einen Schwarm als eine Kolonie und erhielten dann eine ebenso gute Uebereinstimmung wie auf den Platten ohne Kolonieenschwärme. — Für die Richtigkeit unserer Ansicht spricht eine ganz vor kurzem erschienene Arbeit von Bugge[2]), der ebenfalls auf Agar solche Kolonieenschwärme auftreten sah. Er fand, daß die einzelnen kleinen Kolonieen eines solchen Kolonieenschwarmes nur Ansammlungen von den aus einer großen Mutterkolonie „ausgeschwärmten“ Bakterien „in künstlichen Agardellen“ sind. Die „Agardellen“ sind seiner Ansicht nach „durch Platzen von Luftblasen“ entstanden. Um bei Zählungen einwandfreie Resultate zu erhalten, hält Bugge es deshalb für notwendig, die Luftblasenbildung bei der Verteilung des Materials in flüssigem Agar möglichst zu verhüten oder das Vorhandensein der Kolonieenschwärme bei den Zählungen zu berücksichtigen.

Sehr wesentliche Bedenken stehen also der Benutzung von Heyden-Agar als Nährboden nicht entgegen.

Aus unseren Ausführungen über die bei Bakterienzählungen benutzten Nährböden und ihren Einfluß auf das Resultat geht hervor, daß Heyden-Agar sich am besten als Nährboden eignet, denn er gibt sicherere und im allgemeinen auch höhere Werte als Gelatinenährböden und ist auch den anderen von uns benutzten Agarnährböden überlegen.

§ 3. Die Plattenzählmethode.

Da wir bei der Benutzung der Plattenzählmethode eine sehr geringe Bodenmenge in die Zählplatte bringen müssen, so bedarf es eigentlich kaum noch der Erwähnung, daß für uns die direkte Aussaat des Bodens in die Platten so gut wie ausgeschlossen war. Die Zulässigkeit der Verwendung von Verdünnungen hat aber manche Anfechtungen erfahren; zuerst wohl von seiten Fraenkels. Er ist der Ansicht, daß eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien des Bodens in der Aufschwemmungsflüssigkeit sich nicht erzielen lasse. Behrens äußert sich ebenfalls dahin, daß ein großer Teil der Bakterien in der Aufschwemmungsflüssigkeit von den Bodenteilchen nicht losgelöst wird. Wir halten das nicht für sehr wahrscheinlich, da wir auch bei vollkommen getrennt durchgeführten Untersuchungen einer Bodenprobe stets relativ gut übereinstimmende Resultate erhielten, wenn wir, wie das bei unseren Zählversuchen stets geschah, die Bodenaufschwemmung recht kräftig durchschüttelten und der noch in Bewegung befindlichen Flüssigkeit die zu übertragenden Teile entnahmen. Es darf auch angenommen werden, daß in diesem Falle bei einem schnellen Arbeiten die abschlämmbaren Bestandteile des Bodens größtenteils mitübertragen werden und in die Zählplatte gelangen. Größere Bodenpartikelchen werden allerdings in der Aufschwemmungsflüssigkeit zurückbleiben; an diesen werden indessen nach kräftigem Durchschütteln der Aufschwemmungen kaum noch viele Keime haften.

---

[1]) Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. p. 454; Ref. in A. Kochs Jahresber. Jahrg. IX. 1898.

[2]) Bugge, Pseudokolonieen mit Bewegung im Innern auf Agarplatten. (Ref. im Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XLII. 1908. Beiheft. p. 69.)

Als Aufschwemmungsflüssigkeit benutzten wir steriles Leitungswasser. Bei **Thieles** Untersuchungen übte steriles Wasser einen ungünstigen Einfluß auf die Bakterien aus, den er bei der Verwendung physiologischer Kochsalzlösuug nicht bemerkte. Eine Schädigung durch Leitungswasser konstatierten auch **Hiltner** und **Störmer**. Durch $^3/_4$-stundenlanges Stehen der Aufschwemmungsflüssigkeit wurde ein Teil der Bakterien, nach dem Ergebnis der Zählung 20 Proz., abgetötet. **Hiltner** und **Störmer** führen diese Verminderung der Bakterienzahl auf die verschiedene osmotische Wirksamkeit des Bodenwassers einerseits und der Aufschwemmungsflüssigkeit andererseits zurück. Sie sind der Ansicht, daß sie es hier mit der von **Alfred Fischer** als Plasmoptyse bezeichneten Erscheinung zu tun haben. Durch Verwendung einer Lösung von 0,4 Proz. Kochsalz und 0,4 Proz. Kaliumchlorid konnten sie die Plasmoptyse nicht verhindern, im Gegenteil war die Schädigung hier eine noch größere. Die genannten Autoren stellten deshalb auch weiterhin die Verdünnungen mit Leitungswasser her. Ebenfalls wirkt nach **Behrens**[1]) und nach **Löhnis**[2]) die Aufschwemmungsflüssigkeit hemmend oder vernichtend auf viele Bakterien ein. Schon in kurzer Zeit soll nach ihrer Ansicht in den Aufschwemmungen ein großer Teil der eingeimpften Bakterien absterben. Tatsächlich fehlt aber bis jetzt ein Beweis für diese Annahme. Wenn die Schädigung der Bakterien so groß sein soll, so würde es immerhin nicht recht erklärlich sein, daß sich bei den Versuchen von **Maassen** und **Behn** die Bakterienzahl nach $1^1/_2$-stündigem Stehen der Aufschwemmungen nicht geändert hatte. Leitungswasser, sowie eine Lösung von 1 Proz. Pepton und 0,8 Proz. Kochsalz in destilliertem Wasser ergaben dabei als Aufschwemmungsflüssigkeit keinen Unterschied. Erst nach Verlauf von 3—4 Stunden beobachteten die genannten Autoren eine kleine Abnahme der Bakterienzahl.

Auf Grund dieser von den verschiedenen Autoren gemachten Erfahrungen erschien es uns bei unseren Untersuchungen angezeigt, auf jeden Fall ein längeres Stehen der Aufschwemmungen vor der Aussaat in die **Petri**-Schalen zu vermeiden.

Die Aufschwemmungen stellten wir in folgender Weise her:

Einem mit 16—22 g des zu untersuchenden Bodens beschickten, 400 ccm Leitungswasser enthaltenden Kolben wurden nach kräftigem Durchschütteln 25 ccm mit einer sterilisierten Pipette entnommen, in

---

1) **Behrens**, l. c. 1904.

2) **Löhnis**, l. c. 1905.

einen zweiten Kolben mit 400 ccm Verdünnungswasser gebracht, von diesem wieder 25 ccm in einen dritten übergeimpft und von dem dritten die gleiche Menge in einen vierten. Handelte es sich um eine sehr bakterienreiche Erde, so wurden auch wohl von dem vierten Kolben 50 ccm in einen fünften übertragen. Aus dem vierten bezw. fünften Kolben wurden dann Teile, welche die $^1/_{100}$ bezw. $^1/_{400}$—$^1/_{500}$ mg der Impferde entsprechenden Bakterien enthielten, in die Petri-Schalen übergeimpft. Die Impfmenge von $^1/_{100}$ mg entsprach dann etwa 1 ccm der vierten Verdünnung, diejenige von $^1/_{400}$—$^1/_{500}$ mg ungefähr 2 ccm der fünften.

Sofort nach der Einimpfung der Bakterien wurde der Nährboden, Heyden-Agar, in die Platten übertragen. Ueber die verschiedenen Nährböden handelt schon der vorige Paragraph. Hier sei erwähnt, daß nach Behrens[1]) und Löhnis[2]) ein Teil der Bakterien bei der Uebertragung aus der Aufschwemmung in Gelatine so geschädigt wird, daß er nicht keimen kann. Löhnis, der übrigens vermutet, daß peptonzersetzende Organismen sämtlich auf Gelatine wachsen, gelangte zu der Ansicht, weil er mit Hilfe der Verdünnungsmethode von Hiltner und Störmer 4—5mal mehr peptonzersetzende Bakterien fand, als durch die Plattenmethode ermittelt werden konnten. Es muß aber betont werden, daß es im allgemeinen nicht statthaft ist, die Resultate von Plattenzählungen mit den Werten zu vergleichen, die mit Hilfe der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode gewonnen worden sind; denn die letzteren sind oft sehr wenig zuverlässig. Löhnis hat schon auf die beträchtlichen der Hiltner-Störmerschen Methode infolge der erforderlichen kleinen Impfmengen anhaftenden Fehler hingewiesen. Bei unseren Untersuchungen trat die große Unvollkommenheit dieser Methode ebenfalls deutlich hervor. Wir erhielten bei der Verdünnungsmethode z. B. an peptonzersetzenden Bakterien (1-proz. Peptonlösung in Leitungswasser, 10 Parallelröhrchen) folgende Bakterienzahlen pro 1 g desselben Bodens: bei einer Impfmenge pro Röhrchen

von $^1/_{10000}$ mg 5 Mill. Bakterien
von $^1/_{100000}$ „ 20 „ „;

Für stickstoffbindende Bakterien (Azotobacter) gelangten wir pro 1 g Boden zu folgenden Werten: bei einer Impfmenge pro Röhrchen

von $^1/_4$ mg 800 Bakterien
von $^1/_{10}$ „ 2000 „

Als Nährlösung diente Beijerincksche Mannitlösung. Man müßte unserer Ansicht nach schon sehr viele Parallelröhrchen anwenden, wenn man die dem Verfahren anhaftenden Fehler bedeutend reduzieren wollte.

Auch wenn man in dem Löhnisschen Versuch der Hiltner-Störmerschen Methode Sicherheit zuschreiben will, dünkt es uns nach den Erfahrungen mit Gelatine- und Agarnährböden am wahrscheinlichsten, daß in Gelatine ein großer Teil der Bakterien überhaupt nicht gedeihen kann, die in Peptonlösung zur Entwickelung kommen würden; in Agarnährböden würden wahrscheinlich die Bakterien wachsen, die sich in Gelatine nicht vermehren.

Andererseits ist zu vermuten, daß bei der Plattenkultur auch infolge des Nährstoffentzuges oder der Diffusion von Bakterienstoffwechsel-

---

1) Behrens l. c.
2) Löhnis l. c.

produkten seitens mancher Kolonieen, Umstände, die in § 4 p. 12 erörtert sind, ein Teil der Bakterien sich der Zählung entzieht.

Die mit dem Heyden-Agar beschickten Petri-Schalen wurden vor Fremdinfektion geschützt bei einer Temperatur von etwa 24—26° C aufbewahrt; bei Zimmertemperatur (16—20° C) wuchs ungefähr die gleiche Anzahl zu Kolonieen heran. Die Dauer der Aufbewahrung betrug 10 Tage. Nach Ablauf dieser Frist erschienen manchmal noch ein paar Kolonieen, was aber nicht von Belang war. Hesse und Niedner halten eine 3 Wochen lange Züchtung der Bakterien auf den Platten bei einer Temperatur von 18—25° C für notwendig. Diese lange Züchtungsdauer erklärt sich wohl daraus, daß die genannten Autoren außerordentlich viele Kolonieen, 200—2000 und darüber, auf den einzelnen Platten zur Entwickelung kommen ließen. Im allgemeinen wird aber die Frist, innerhalb welcher noch Bakterienkolonieen heranwachsen, um so länger sein, je dichter die Platte mit Kolonieen besät ist. Bei unseren Versuchen bewegte sich die Zahl der Kolonieen auf den Platten meist zwischen 100 und 400. Die Zählung war auch dann noch nicht mit sehr großen Schwierigkeiten verknüpft, wenn sich 500 und mehr Kolonieen entwickelt hatten. Zur Ermittelung der Zahl der Kolonieen bedienten wir uns stets einer starken Lupe. Der Zählung unterwarfen wir die ganze Platte, nicht bloß einen Teil derselben. Schimmelpilzkolonieen, die als solche sicher zu erkennen waren, haben wir nicht berücksichtigt.

Es erübrigt noch, die Art und Weise der Vorbereitung der Bodenprobe zur bakteriologischen Untersuchung zu erwähnen. Die Bodenprobe muß natürlich in einen solchen Zustand übergeführt werden, daß sie eine homogene Masse darstellt. Größere Steinchen und zusammengebackene Bodenpartieen dürfen also in ihr nicht mehr vorkommen. Wir entfernten diese daher durch Auslesen und Zerkleinern so gut wie möglich und mischten den Boden dann recht gründlich durch. Bei sehr feuchter Erde sind jedoch die Manipulationen sehr schwierig durchzuführen. Deshalb wählten wir, um stets einen guten Durchschnitt zu bekommen, die aus der Bodenprobe in das Ausschwemmungswasser zu übertragende Bodenmenge relativ groß. Wir nahmen, wie schon bemerkt, 16—22 g. Es hat keinen Wert, diese Gewichtsmenge bis auf die letzten Dezimalen genau abzuwägen. Es reicht vollkommen aus, wenn die Wägung bis auf 0,05 g Boden genau vorgenommen wird. Hiltner und Störmer siebten den nicht zu feuchten Boden vor der Untersuchung und gingen dann von einem viel kleineren Quantum, etwa 0,5 g, aus. Brachten sie größere Gewichtsmengen, bis 21 g. zur Aussaat in die Verdünnungsflüssigkeit, so blieb das Resultat ungefähr dasselbe. Die Probenahme auf dem Felde ist später behandelt (vgl. § 4).

§ 4. Der Einfluß der Aussaatstärke auf das Resultat der Bakterienzählung und die Fehlergrenze derselben.

Bei den Untersuchungen nach dem Plattenzählverfahren haben wir von vornherein mit einem relativ großen Fehler des Resultats zu rechnen. Ihre Ausführung ist mit einer so großen Reihe von Manipulationen verknüpft, und ihr schließliches Ergebnis in so hohem Grade von den den Bakterien bei der Plattenkultur gebotenen Lebensbedingungen abhängig, daß das nicht weiter auffällig ist. Die große Wichtigkeit des Nährbodens für das Endergebnis der Untersuchung ging schon aus früheren Ausführungen (vgl. § 2) hervor. Auch die Stärke der Aussaat in die Platten übt einen Einfluß auf das Resultat aus. Vergleichen wir nämlich die bei der Benutzung ungleich großer Aussaatstärken pro 1 g desselben Bodens gewonnenen Bakterienzahlen, so ergeben sich meist um so höhere Werte, je weniger Boden in die Platten eingeimpft worden ist. Säen wir z. B. in die einzelnen Platten die $^1/_{100}$ mg Boden entsprechenden Bakterien ein, so ist im allgemeinen die pro 1 g Boden ermittelte Bakterienzahl niedriger, als wenn wir nur eine Aussaatstärke von $^1/_{400}$ oder $^1/_{500}$ mg benutzen. Aehnliche Differenzen fand Ruata bei Wasseruntersuchungen. Nicht unbedeutende Abweichungen, die wir bei der Verwendung verschiedener Aussaatstärken ($^1/_{100}$ mg einerseits, $^1/_{400}$ oder $^1/_{500}$ mg andererseits) erhielten, geben die folgenden Zahlen wieder:

Boden-No.	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen Aussaatstärke $^1/_{100}$ mg	 Aussaatstärke $^1/_{400}$—$^1/_{500}$
I	45	65
II	27	39
III	16	22
IV	12	17

Bei der Benutzung der größeren Aussaatstärke muß demnach ein Teil der in die Platten eingeimpften, an und für sich entwickelungsfähigen Bakterien an der Vermehrung gehindert worden sein. H. Wichmann[1]) nimmt einen Einfluß von schnell herangewachsenen Bakterien- oder Pilzkolonieen auf Keime an, die in dem gelatinierenden Medium eingeschlossen sind, sich aber noch nicht vermehrt haben. Derselbe soll sich in der Weise äußern können, daß einzelne Kolonieen in ihre Nachbarschaft Stoffwechselprodukte ausscheiden, welche hemmend oder abtötend wirken können. Andererseits sollen auch schnell heranwachsende Kolonieen ihrer Umgebung die Nährstoffe entziehen und so langsam sich vermehrende Bakterien in dieser Region unterdrücken. Dichter mit Reinkultur besäte Platten geben ja auch kleinere Kolonieen.

Sollen möglichst sicher alle auf Heyden-Agar wachsenden Bodenbakterien auf den Platten zur Entwickelung kommen, so würde demnach eine so weitgehende Verdünnung des Bodens mit Wasser erforderlich sein, daß die in dem Agar eingeschlossenen Keime sich gegenseitig in ihrer Vermehrung nicht mehr beeinflussen. Eine sehr starke Verdünnung des Bodens bringt aber, wie wir später (vgl. p. 585) sehen werden, bedeutende Fehlerquellen mit sich, so daß wir auf dieses Verfahren verzichten müssen.

Um vergleichbare relative Zahlen zu erhalten, könnte man dazu übergehen, bei schwacher Verdünnung des Bodens stets annähernd die gleiche Bakterienmenge in die Zählplatte zu bringen. Weil von vornherein aber sehr viele Verdünnungsplatten herzustellen sind, um die Zählplatten mit gleicher Bakterienzahl nachher aussuchen zu können, so würde ein solches Beginnen die Arbeiten geradezu ins Ungemessene steigern. Auch dieses Verfahren können wir demgemäß nicht benutzen.

Schließlich verwendet haben wir ein anderes Verfahren. Zu demselben führte uns die Tatsache, daß der durch das Ausbleiben der Entwickelung mancher Bakterien zu Kolonieen hervorgerufene Fehler nicht ganz so erheblich ist, wie es auf Grund der eben angeführten Zahlen, die den Einfluß ungleich starker Verdünnung auf das Resultat der Bakterienzählung illustrieren sollen, den Anschein haben könnte. Bei den relativ großen, der Bakterienzählmethode anhaftenden Fehlern, die, wie wir p. 585 sehen werden, bei einer Aussaatstärke von nur $^1/_{400}$ mg dazu noch viel größer sind als bei einer solchen von $^1/_{100}$ mg pro Platte, sind die Differenzen zwischen den bei den verschiedenen Aussaatstärken erlangten Resultaten natürlich von sehr ungleicher Größe. Die p. 580 wiedergegebenen Zahlen stellen nur einige der höchsten beobachteten Differenzen dar; in mehreren Fällen wurde dagegen auch fast vollkommene Uebereinstimmung erzielt. Liegen zwei Böden vor, von denen der eine eine viermal so große Bakterienzahl besitzt als der andere, so findet man daher noch annähernd dieselben in dem Verhältnisse 1:4 stehenden Bakterienzahlen pro 1 g Boden, mag man nun von dem bakterienärmeren Boden dieselbe Menge oder die vierfache Menge aussäen, wie von dem bakterienreicheren. Wir begnügen uns deshalb damit, unter Zugrundelegung der gleichen Aussaatstärke die Schwankungen zu verfolgen, welche die Gesamtzahl der auf Heyden-Agar wachsenden Bakterien im Ackerboden aufweist. Wenn wir diesen Weg beschreiten, beispielsweise stets eine Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg benutzen, so muß bei einem sehr bakterienreichen Boden die Zahl der nicht zur Kolonieenbildung gelangten, d. h. die Menge der nicht zur Zählung gekommenen agarwüchsigen Bakterien eine relativ größere sein als in einem bakterienarmen Boden; die Agarplattenmethode ergibt demnach in solchen Fällen, in denen ein sehr starkes Ansteigen oder Absinken der Zahl der agarwüchsigen Bakterien stattgefunden hat, zu kleine Ausschläge. Vielleicht findet sich später noch ein gangbarer Weg, auf welchem es möglich ist, diesen der Plattenzählmethode anhaftenden Fehler auszuschalten.

---

[1]) Wichmann, H. in Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. III. p. 337 ff.

Wir wenden uns jetzt der Feststellung der Fehlergrenzen der Untersuchungen nach der Plattenzählmethode zu. Vorweg sei bemerkt, daß wir von einem vorliegenden Boden fast ausnahmslos nur eine einzige Bodenprobe untersucht haben. Von dieser wurden also die vier oder fünf Verdünnungen hergestellt, alsdann die $^1/_{100}$ bezw. $^1/_{400}$ oder $^1/_{500}$ mg Boden entsprechenden Mengen der vierten bezw. fünften Verdünnung in mindestens 5 Platten geimpft, die Platten mit Heyden-Agar beschickt und schließlich aus der Zahl der Kolonieen, die auf den Platten mit gleicher Aussaatstärke herangewachsen waren, die Bakterienzahl pro 1 g der Bodenprobe berechnet. Die Fehlergrenze des Endresultats einer solchen Zählung berechneten wir aus den einzelnen Plattenwerten. Wir gingen dabei in der Weise vor, daß wir aus unserem reichen Zahlenmaterial die dem Anscheine nach am schlechtesten übereinstimmenden Reihen auswählten und dann die Fehler der gefundenen Plattenwerte bestimmten. Der mittlere Fehler des Mittelwertes ist nach der bekannten Formel $E = \pm \sqrt{\frac{S}{n\,(n-1)}}$ berechnet worden, in welcher E den mittleren Fehler, S die Summe der Fehlerquadrate und n die Zahl der Parallelen bedeutet. Der wahrscheinliche Fehler ist dann durch Multiplikation mit 0,67, abgerundet $^2/_3$, ermittelt worden.

Es zeigte sich nun, daß je nach der Aussaatstärke der Fehler ein verschiedener ist.

Den größten mittleren bezw. wahrscheinlichen, aus den einzelnen Plattenwerten berechneten Fehler ergab bei einer Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg pro Platte die folgende Reihe mit 6 Parallelen:

Kolonieen:
294
181
347
230
138
254

Arithmetisches Mittel 241

Hieraus berechnet sich als

		mittlerer Fehler	wahrscheinlicher Fehler
für 3 Parallelen	± 43,62 =	± 18,18 Proz.[1]	± 12,12 Proz.[1]
„ 4 „	± 37,78 =	± 15,66 „	± 10,44 „
„ 5 „	± 33,79 =	± 14,02 „	± 9,35 „
„ 6 „	± 30,85 =	± 12,80 „	± 8,53 „

Den größten wahrscheinlichen Fehler bei der schwächeren Aussaatstärke von $^1/_{400}$ mg pro Platte beobachteten wir in der folgenden Reihe:

Kolonieen:
31
26
28
58
21
27
Mittel 32

		Mittlerer Fehler	Wahrscheinlicher Fehler
für 5 Parallelen	± 5,92 =	± 18,49 Proz.	± 12,33 Proz.
für 6 Parallelen	± 5,40 =	± 16,88 „	± 11,25 „

Bei der nur geringen Aussaatstärke von nur $^1/_{400}$ mg scheinen demnach die Fehler der Bestimmungen im allgemeinen höher zu sein als bei der größeren von $^1/_{100}$ mg. Tatsächlich benutzt haben wir daher in fast allen Fällen die Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg pro Platte, also die Aussaatstärke, bei welcher wir, wie noch einmal wiederholt sei, als größte wahrscheinliche Fehler ermittelten:

bei 5 Parallelplatten ± 9,35 Proz.
bei 6 Parallelplatten ± 8,53 „

Wir beschränken uns deshalb zunächst auf die mit dieser Aussaatstärke ausgeführten Zählungen, wenn wir jetzt weiter prüfen, ob die nach unserer Art gezogene Bodenprobe wirklich eine gute Durchschnittsprobe darstellt, ob also nicht die Art der Probenahme schon einen Fehler bedingt. Zunächst untersuchen wir, was die Probenahme für einen Einfluß hat, wenn wir in verschiedenen Bodenproben einer möglichst homogen gemischten Erdmasse die Bakterienzahl bestimmen. Zu diesem Zwecke berechneten wir in mehreren Fällen aus den beiden Endwerten, welche wir durch die Zählung der Bakterien in zwei Bodenproben einer derartig vorbereiteten Erdmasse erhalten hatten, nach der erst schon angegebenen Formel den wahrscheinlichen Fehler. Es ergab sich dann, daß der größte aus den beiden Endresultaten zweier derartiger Zählungen berechnete mittlere Fehler für jedes Endresultat sich nur auf ± 4,24 Proz., der wahrscheinliche Fehler auf ± 2,83 Proz. belief; während, wie noch einmal hervorgehoben sei, der aus den einzelnen Plattenwerten berechnete größte wahrscheinliche Fehler des Endresultates einer Reihe mit 6 bezw. 5 Platten ± 8,5 Proz. bezw. ± 9,3 Proz. betrug. Bei der Untersuchung verschiedener Bodenproben einer homogen gemischten Erdmasse ist also der wahrscheinliche Fehler sehr gering. Die zu einer Bakterienzählung dienende Bodenprobe stellt demnach eine gute Durchschnittsprobe dar. Bei der guten Uebereinstimmung der Bodenproben einer homogen gemischten Erdmasse ist die Untersuchung zweier Parallelproben ziemlich gleichbedeutend mit der Untersuchung der doppelten Anzahl der Parallel-

---

1) Das arithmetische Mittel gleich 100 gesetzt.

platten einer Bodenprobe, d. h. mit der Untersuchung von 10 bezw. 12 Parallelplatten.

In dem Falle, wo wir aus den Untersuchungen zweier aus einer homogen gemischten Erdmasse stammenden Bodenproben den wahrscheinlichen Fehler von ± 2,83 Proz. berechneten, handelt es sich um eine Reihe mit 6 Parallelplatten und eine andere mit 9 Parallelen. Aus den Untersuchungen zweier Parallelproben mit je 5 und 6 Parallelplatten wurde ein größerer wahrscheinlicher Fehler als ± 2,83 Proz. nicht ermittelt. Die beiden bei der erwähnten Berechnung zugrunde gelegten Reihen sind die folgenden:

Untersuchung I	Untersuchung II
119	145
152	150
155	166
157	148
163	165
147	168
	171
	156
	153
Mittel 148,8	Mittel 158

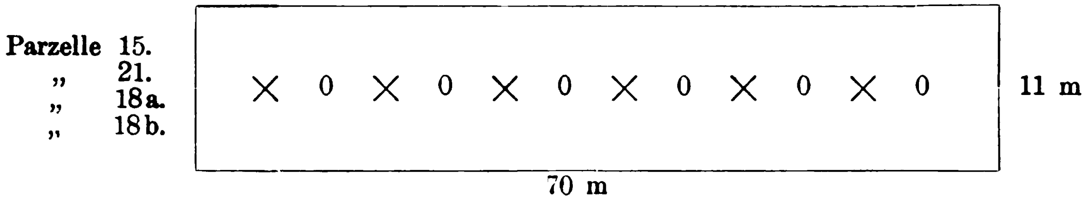
Wir haben uns weiter zu fragen, ob die Art und Weise unserer Probenahme zuverlässig ist, wenn es sich um die Bestimmung der Bakterienzahl in dem Boden eines Feldstückes handelt, ob in verschiedenen auf einem Felde getrennt gezogenen Proben die ermittelten Bakterienzahlen gut übereinstimmen. Bevor wir diese Frage erörtern, wollen wir noch die Probenahme auf dem Felde besprechen. Die Probenahme erfolgte auf den einzelnen Parzellen, die zu unseren Untersuchungen dienten, stets in ähnlicher Weise. Gewöhnlich wurden die Bodenproben in einer oder in zwei bestimmten Pflugfurchen bezw. Drillreihen an 6 Stellen gezogen und sofort zu einer Durchschnittsprobe vereinigt, die dann etwa 500—600 g wog. Jede einzelne Probe stellte einen Bodenzylinder dar, welcher an der vertikal abgestochenen Wand einer zuvor mit dem Spaten ausgehobenen Grube mit Hilfe des gut gereinigten Nickellöffels entnommen worden war, und von der Oberfläche des Bodens bis zur gewöhnlichen Tiefe der Pflugfurche, d. h. etwa 20 cm tief, reichte. Von den kleinen, etwa 3 qm großen Parzellen Ia, Ib, II und III wurden jedesmal nur an je 3 Stellen Proben entnommen; die Durchschnittsprobe wog dann etwa 200—300 g.

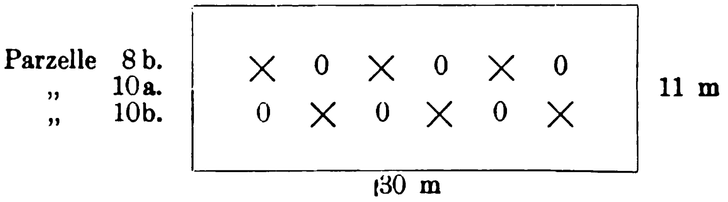
Bei den Untersuchungen der Feldparzellen gingen wir nur von einer nach der beschriebenen Art und Weise gezogenen Durchschnittsprobe aus. Die Fehler der Probenahme versuchten wir in der Weise festzustellen, daß wir einzelnen Parzellen (es handelte sich um die Parzellen 21, 8b, 10a, 10b, II) gleichzeitig zwei Durchschnittsproben entnahmen und in jeder die Bakterienzahl bestimmten. Um die Anordnung der Probenahme sowohl dann, wenn es sich um eine wie um zwei Durchschnittsproben handelt, anschaulich zu machen, sei auf die folgenden Skizzen hingewiesen:

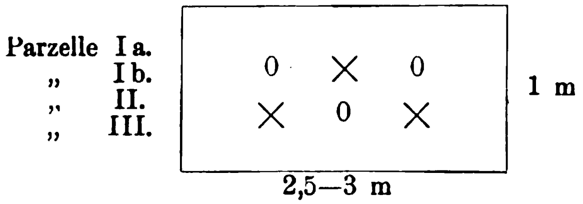
(Siehe die Skizzen p. 584.)

Der größte wahrscheinliche Fehler, der aus den Endresultaten zweier Untersuchungen auf dem Felde getrennt gezogener Proben (Durchschnittsproben) ermittelt wurde, beläuft sich für jede Untersuchung bei der Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg pro Platte auf ± 5,13 Proz. Die Plattenwerte sind bei den betreffenden Reihen die folgenden:

Probe I: ×. Probe II: 0.







Untersuchung der Bodenprobe

No. I.		No. II.	
243	Mittel: 223,5	162	Mittel: 201,2
219		193	
186		228	
213		237	
249		198	
231		189	

Es beträgt:

	der Wassergehalt der Bodenproben	die Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens
Probe I	18,83 Proz.	27,54 Millionen
„ II	18,54 „	24,70 „

Der so erhaltene wahrscheinliche Fehler von ± 5,13 Proz. bleibt hinter dem aus den einzelnen Plattenwerten einer Bodenprobe früher (vgl. p. 582) gewonnenen maximalen wahrscheinlichen Fehler, d. h. ± 8,5 bezw. ± 9,3 Proz., zurück; er ist höher als der aus den Untersuchungen zweier Bodenproben einer homogen gemischten Erdmasse ermittelte größte wahrscheinliche Fehler, d. h. größer als ± 2,83 Proz. Ein geringer Einfluß der Probenahme auf dem Felde scheint also nachweisbar zu sein, er ist aber wohl nur sehr gering.

Wir können uns also über die Art der Probenahme auf dem Felde und die Fehlergrenze der Bakterienzählung kurz, wie folgt, äußern:

Auf den größeren landwirtschaftlich benutzten Parzellen entnahmen wir in einer Pflugfurche an 6 Stellen Bodenproben, vereinigten diese, mischten die so erhaltene Durchschnittsprobe gründlich durch, entnahmen daraus eine neue Probe und bestimmten darin schließlich die Bakterienzahl. Bei einer so ausgeführten Untersuchung nehmen wir an

	als wahrscheinlichen Fehler des Endresultats
Für 5 Parallelplatten	± 9,3 Proz.
„ 6 „	± 8,5 „

Wir wollen jetzt noch kurz erörtern, wie die Fehlergrenze der Untersuchungen je nach der Stärke der Aussaat und Verdünnung schwankt. Es ist in dieser Hinsicht schon nachgewiesen worden, daß die aus den Untersuchungen einer Bodenprobe sich ergebenden Plattenwerte bei der größeren Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg besser übereinzustimmen scheinen als bei der geringeren von nur $^1/_{400}$ mg; denn bei der einen beläuft sich der größte beobachtete wahrscheinliche Fehler für 5 bezw. 6 Parallelplatten auf nur ± 9,3 bezw. ± 8,5 Proz., bei der anderen dagegen auf ± 12,3 bezw. ± 11,2 Proz.

Während weiterhin, wie schon gezeigt, bei einer Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg der aus den Untersuchungen verschiedener Bodenproben einer möglichst homogen gemischten Erdmasse berechnete größte wahrscheinliche Fehler (d. h. ± 2,83 Proz.) sehr weit hinter dem aus den Plattenwerten einer Bodenprobe berechneten (d. h. ± 8,5 bezw. 9,3 Proz.) zurückbleibt, sind die beiden bei einer Aussaatstärke von nur $^1/_{400}$ mg annähernd gleich hoch; in dem einen Falle beträgt er ± 10,47 Proz., in dem anderen ± 12,3 bezw. ± 11,2 Proz. Die Mittel, die aus den einzelnen Plattenreihen gezogen sind, stimmen also bei schwächerer Aussaat ($^1/_{400}$ mg) schlechter überein als bei stärkerer ($^1/_{100}$ mg). Bei der geringen Aussaatstärke von $^1/_{400}$ mg pro Platte ergaben die folgenden Untersuchungen zweier homogen gemischter Bodenproben den größten wahrscheinlichen Fehler; sowohl die bei der schwächeren als der stärkeren Aussat für dieselben gewonnenen Werte sind hier angeführt:

Aussaatstärke pro Platte: $^1/_{100}$ mg Untersuchung der Bodenprobe:				Aussaatstärke pro Platte: $^1/_{400}$ mg Untersuchung der Bodenprobe:			
No. I Kolonieen		No. II Kolonieen		No. I Kolonieen		No. II Kolonieen	
155	Mittel: 176,5	200	Mittel: 167,2	63	Mittel: 50	29	Mittel: 40
216		159		45		36	
170		158		61		39	
165		193		49		31	
203		147		42		58	
150		176		40		47	

Aus den Untersuchungen der beiden der homogen gemischten Erdmasse entstammenden Bodenproben erhalten wir demnach als wahrscheinlichen Fehler jeder Untersuchung bei einer Aussaatstärke von:

$^1/_{100}$ mg	$^1/_{400}$ mg
± 2,55 Proz.	± 10,47 Proz.

Auch bei den Untersuchungen verschiedener auf dem Felde getrennt gezogener Bodenproben beobachteten wir bei der schwächeren Aussaatstärke von $^1/_{400}$ mg in manchen Fällen eine sehr schlechte Uebereinstimmung der gewonnenen Resultate. Die schlechteste Uebereinstimmung zeigten die folgenden Reihen; auch hier sind die mit der schwächeren wie der stärkeren Aussaat erlangten Werte wiedergegeben:

Aussaatstärke pro Platte: $^1/_{100}$ mg Untersuchung der Bodenprobe:				Aussaatstärke pro Platte: $^1/_{400}$ mg Untersuchung der Bodenprobe:			
No. I Kolonieen		No. II Kolonieen		No. I Kolonieen		No. II Kolonieen	
156	Mittel: 132,3	122	Mittel: 121,2	78	Mittel: 52,8	44	Mittel: 35,6
143		118		57		43	
128		132		48		38	
109		135		29		27	
127		99		52		26	

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

	Dabei ist der Wassergehalt des Bodens	Die Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens bei einer Aussaatstärke von	
		$^{1}/_{100}$ mg	$^{1}/_{400}$ mg
Bodenprobe I	18,04 Proz.	16,18 Millionen	25,77 Millionen
„ II	17,96 „	14,77 „	17,36 „

Der aus den beiden Untersuchungen zweier getrennt gezogener Bodenproben einer Feldparzelle ermittelte wahrscheinliche Fehler des Resultats jeder Untersuchung beträgt demnach in diesem Falle bei einer Aussaatstärke von

$^{1}/_{100}$ mg	$^{1}/_{400}$ mg
± 4,29 Proz.	± 18,39 Proz.

Bei der schwächeren Aussaat von $^{1}/_{400}$ mg ist also der wahrscheinliche Fehler viel größer als bei der stärkeren von $^{1}/_{100}$ mg. Da wir die Aussaatstärke von $^{1}/_{400}$ mg pro Platte nur in ganz seltenen Fällen benutzt haben, nämlich meist nur dort, wo die Zahl der Bakterien im Boden sehr hoch und die Unterschiede in der Bakterienzahl der verglichenen Böden sehr groß waren, so gehen wir nicht näher auf diese durch die Größe der Aussaatstärke bedingten Verschiedenheiten ein.

Die Untersuchungen zeigen jedenfalls, daß bei schwächerer Aussaat die Ungenauigkeit der Bakterienzählung eine viel größere ist als bei stärkerer.

Die für Bakterienzählungen angenommenen Fehlergrenzen (wahrscheinlicher Fehler des Endresultats von ± 9,3 bezw. ± 8,5 Proz. bei 5 resp. 6 Parallelplatten und einer Aussaatstärke von $^{1}/_{100}$ mg) könnten sehr weit erscheinen. In Anbetracht der nicht unbedeutenden Schwankungen, welchen die Bakterienzahl im Boden unterworfen ist, schließen aber auch ziemlich bedeutende Fehlerquellen die Verwendbarkeit der Plattenmethode nicht aus. Recht hohe Fehler fanden zum Teil auch Hiltner und Störmer. Die mittleren Fehler stiegen bei ihren Untersuchungen bis auf ± 8 bis 10 Proz., in Ausnahmefällen bis auf ± 15 Proz.; sie beobachteten also als größten wahrscheinlichen Fehler ± 10 Proz. Krüger und Heinze ermittelten dagegen bei den Kolonieenzahlen auf den Parallelplatten nur Fehler der einzelnen Plattenwerte bis zu 5—7 Proz.; größere Abweichungen, bis 10 Proz. und darüber, waren relativ selten.

II. Teil.

Der Einfluß verschiedener Faktoren auf die Zahl der auf Heyden-Agar wachsenden Bakterien im Ackerboden.

§ 5. Die Ausführung der Versuche.

Wir wenden uns nun unserem Hauptthema zu, d. h. wir untersuchen die Frage, welche chemischen und physikalischen Faktoren einen mit Hilfe der Plattenzählmethode feststellbaren Einfluß auf die Bakterienzahl ausüben. Den Einfluß der verschiedenen Faktoren haben wir teils an Tellerversuchen im Laboratorium, teils an einigen Parzellen des Versuchsfeldes des landwirtschaftlich-bakteriologischen Instituts geprüft. Die Tellerversuche wurden in der Weise ausgeführt, daß etwa 500 g des gutgemischten Versuchsfeldlehmbodens auf Teller gebracht und bei einer Temperatur von 20—22° C im Brutzimmer aufbewahrt wurden. Der Wassergehalt des Bodens wurde durch tägliches Begießen auf der Wage annähernd konstant erhalten. Beim Ansetzen der Tellerversuche wie nach Verlauf kürzerer oder längerer Zeit wurde nach vorherigem kräftigen Durchmischen des Bodens den Tellern jedesmal eine Bodenprobe von 16—22 g entnommen, und diese zur Bakterienzählung nach der Heyden-Agar-Plattenmethode benutzt.

Dort, wo es sich um die Untersuchung von Parzellen des Versuchsfeldes handelte, wurden diesen in schon früher beschriebener Weise (vgl. § 4 p. 586 ff.) Proben entnommen, und dann sofort die Bakterienzahl ermittelt. Die Aussaatstärke betrug, soweit nichts Gegenteiliges vermerkt ist, in allen Fällen $^1/_{100}$ mg pro Platte.

Bei den im Laboratorium ausgeführten Tellerversuchen trat in den Tellern, die unbehandelt blieben, fast durchweg während der Dauer der Versuchsreihe eine Zunahme der Bakterienzahl im Boden ein (vgl. die folgende Tabelle). Diese Steigerung der Keimmenge ist manchmal recht bedeutend. In erster Linie ist sie wohl auf den günstigen direkten oder indirekten Einfluß der physikalischen Faktoren, unter dem der Boden in den Tellern stand, zurückzuführen. Eine Ausnahmestellung nimmt nur die Versuchsreihe vom 30. Juni 1908 ein.

Versuchsreihe vom:	Bakterienzahl in 1 g Boden beim Ansetzen der Tellerversuche in Millionen	Datum der Untersuchung	Bakterienzahl in 1 g Boden in Millionen	Datum der Untersuchung	Bakterienzahl in 1 g Boden in Millionen	Datum der Untersuchung	Bakterienzahl in 1 g Boden in Millionen
10. Juli 1907 (Lehmboden)	15,14	16. Juli 1907	52,96	17. Aug. 1907	39,89	5. Sept. 1907	51,24
10. Juli 1907 ($^2/_3$ Lehmboden, $^1/_8$ Sand)	10,13	17. „ „	41,69	28. „ „	35,48		
31. Aug. 1907	20,94	9. Sept. „	29,96				
28. Jan. 1908	17,42	13. Feb. 1908	24,6				
25. Febr. „	17,78	5. März „	31,7	18. März 1908	25,08		
25. „ „	17,78	9. „ „	29,74	20. „ „	26,92		
21. Mai „	9,68	17. Juni „	19,78	3. Aug. „	29,4		
21. „ „	9,68	19. „ „	21,17	4. „ „	31,28		
30. Juni „	10,8	29. Juli „	7,51				
30. „ „	10,8	29. „ „	6,55				

§ 6. Der Einfluß der Bodenfeuchtigkeit.

Ueber den Einfluß des Wassergehaltes im Boden auf die Bakterien liegen schon mehrere Untersuchungen vor. Löhnis[1]) konstatierte mit Hilfe von Umsetzungsversuchen nach Remys Methode einen schädlichen Einfluß der Trockenheit auf die Nitrifikation, die Stickstoffassimilation und die Kalkstickstoffzersetzung. Die Knochenmehlzersetzung, die Denitrifikation und die Harnstoffspaltung wurden nicht oder nur wenig gehemmt. Coleman[2]) hat nachgewiesen, daß sich der günstigste Wassergehalt für die Nitrifikation in einem Lehmboden um 16 Proz. bewegt; Trockenheit und ein sehr großer Wassergehalt des Bodens verlangsamen die Nitrifikation. Nach Remy[3]) wird durch Wasserverlust bis zur

---

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 365.
2) Coleman, Diss. Göttingen 1908.
3) Remy, loc. cit.

Staubtrockenheit der Boden bedeutend ärmer an Bakterien. Rahn[1]) wies ebenfalls auf den schädlichen Einfluß der Trockenheit hin. Ueber den Einfluß höherer Feuchtigkeitsgrade auf die Bakterienzahl ist wenig bekannt. Nur sei erwähnt, daß nach Krüger und Heinze[2]) in einem bei der Bearbeitung mit Wasser versetzten Boden die Bakterienzahl stärker ansteigt als in einem bloß umgegrabenen. Wir haben zunächst den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit in Tellerversuchen zu bestimmen versucht. Der gesiebte und gut gemischte Lehmboden bezw. ein Gemisch von $^2/_3$ Lehmboden und $^1/_3$ Sand, das wir in einer Versuchsreihe verwendeten, wurde in der üblichen Weise auf Teller gebracht und dann bei den beiden Versuchsreihen vom 10. Juli (Tabelle 1 und 2) je 3 Abstufungen im Wassergehalte hergestellt, die Feuchtigkeitsgraden von 30, 50 und 80 Proz. der vollen Wasserkapazität entsprachen. Bei der Versuchsreihe vom 31. August 1907 (Tab. 3) waren 5 verschiedene Feuchtigkeitsgrade vorhanden, je einer von 30, 50, 65, 80 und 100 Proz. der vollen Wasserkapazität. Die volle Wasserkapazität des reinen Lehmbodens betrug 21,69 Proz., diejenige des Lehmboden-Sand-Gemisches, das bei einer Versuchsreihe vom 10. Juli verwendet wurde, 17,96 Proz. Wir drücken den Feuchtigkeitsgrad des Bodens in Prozenten der vollen Wasserkapazität aus und geben hier nicht allein den Wassergehalt des Bodens in Prozenten an, weil die so gewonnenen Zahlen dann untereinander besser vergleichbar sind. Für jeden Feuchtigkeitsgrad hatten wir einen Teller. Die Teller der einen Versuchsreihe vom 10. Juli 1907 (Tabelle 1, reiner Lehmboden) wurden ungefähr 8 Tage, 5 und 8 Wochen nach dem Ansetzen untersucht. Es zeigte sich dabei, daß die Bakterienzahl sich jedesmal entsprechend dem Feuchtigkeitsgrade des Bodens abstuft. Am größten waren die Unterschiede hier bei der ersten, nach 8 Tagen vorgenommenen Untersuchung. Bei dieser war die Bakterienzahl in dem Boden mit einem Feuchtigkeitsgehalte von 80 Proz. der vollen Wasserkapazität ungefähr 6mal so groß als die des Bodens mit einem Feuchtigkeitsgrade von nur 30 Proz. und 5mal so groß als die des Bodens mit 50 Proz. der vollen Wasserkapazität. Bei den späteren Untersuchungen wurden die Unterschiede geringer. Das kommt daher, daß merkwürdigerweise die Bakterienzahl nach 5 und 8 Wochen in den Tellern mit 30 und 50 Proz. der vollen Wasserkapazität eine Zunahme zeigte, während sie in denjenigen mit 80 Proz. ungefähr gleichgeblieben war. Auch bei der Versuchsreihe vom 31. August (Tabelle 3) tritt der günstige Einfluß höheren Wassergehaltes auf die Vermehrung der Bakterien hervor. Weniger groß als in dem reinen Lehmboden sind die Unterschiede der Bakterienzahl in dem Lehmboden-Sand-Gemisch (Versuchsreihe vom 10. Juli 1907, Tab. 2). Daß ein höherer Feuchtigkeitsgrad günstig auf die Vermehrung wirkt, zeigt aber auch diese Versuchsreihe; denn nach 8 Tagen enthielt beispielsweise der Boden mit einem Feuchtigkeitsgrade von 80 Proz. der vollen Wasserkapazität ungefähr 5mal mehr Bakterien als der Boden mit 50 Proz. der vollen Wasserkapazität. Am günstigsten auf die Vermehrung der Bakterien wirkte in allen Fällen ein Wassergehalt von 80 Proz. der vollen Wasserkapazität. Die in der Tabelle 3 vom 31. August 1907 bemerkbare, etwas ungünstigere Wirkung eines Feuchtigkeitsgrades von 100 Proz. ist vielleicht auf die

---

1) Rahn, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1907.

2) Krüger und Heinze, Landw. Jahrb. Bd. XXXVI. 1907

schlechte physikalische Beschaffenheit zurückzuführen, welche dieser Boden infolge der bedeutenden Wasserzufuhr angenommen hatte.

Weiter zeigen die Tabellen 1 und 3 vom 10. Juli bezw. 31. August 1907, daß Austrocknung des Bodens die Lebensdauer vieler Bakterien sehr verkürzt. Bei der einen Versuchsreihe ist die Bakterienzahl in der Zeit vom 10.—16. Juli bei einer Abnahme des Wassergehaltes von 15,59 Proz. auf 6,5 Proz. von 15,44 Mill. auf 8,45 Mill. gesunken; bei der anderen ist der Wasserverlust in 11 Tagen ungefähr der gleiche; die Bakterienzahl ging dabei von 20,99 Mill. auf 9,98 Mill. pro 1 g trockenen Bodens, also auf die Hälfte, zurück.

Wir prüfen jetzt, in welcher Weise sich der Einfluß der Bodenfeuchtigkeit bei den Untersuchungen der Böden unserer Feldparzellen äußert. Der Wassergehalt des Bodens ist, abgesehen von anderen Faktoren, wesentlich von der Menge der Niederschläge sowie von der Verdunstungsgröße abhängig, die namentlich bei hoher Sommertemperatur nicht unbedeutend ist. Die in den Tabellen 4, 5 und 6 sich findenden Angaben über die wöchentlichen Niederschlagsmengen, die Bodentemperatur in 10 cm Tiefe und den von Zeit zu Zeit gemessenen Feuchtigkeitsgrad können wohl ungefähr einen Anhalt für die fortlaufenden Veränderungen des Feuchtigkeitsgehaltes abgeben. Die spärlichen Angaben über den prozentischen Wassergehalt des Bodens reichen allein nicht aus, da wir für unsere Zwecke alle Veränderungen des Feuchtigkeitsgehaltes kennen müssen. Die beigefügten Kurventafeln (Taf. A, B und C) geben die Bakterienzahl und die summarischen Niederschlagsmengen pro Woche an. Bei jeder Untersuchung wurden die Zahlen für den Wassergehalt des Bodens eingetragen.

Die Angaben über die Bodentemperatur in 10 cm Tiefe im Mittel pro Woche, sowie über die Regenhöhe haben wir nach den Ergebnissen täglicher Beobachtungen zusammengestellt, die auf dem einige Hundert Meter von unserem Versuchsfelde entfernten landwirtschaftlichen Versuchfelde der Universität Göttingen angestellt werden. Herrn Prof. v. Seelhorst bin ich für die freundliche Ueberlassung dieses Zahlenmaterials zu großem Danke verpflichtet.

Es sei noch bemerkt, daß die Parzelle 15 (Tab. 5) im Jahre 1906 Runkelrüben, 1907 Sommergerste und 1908 Pferdebohnen trug. Die Bestellung der Sommergerste erfolgte am 3. April 1907; am 14. August wurde die Gerste gemäht, bald darauf die Stoppel gestürzt, und am 4. September die Parzelle 20 cm tief gepflügt.

Die Pferdebohnen wurden am 9. April 1908 gedrillt.

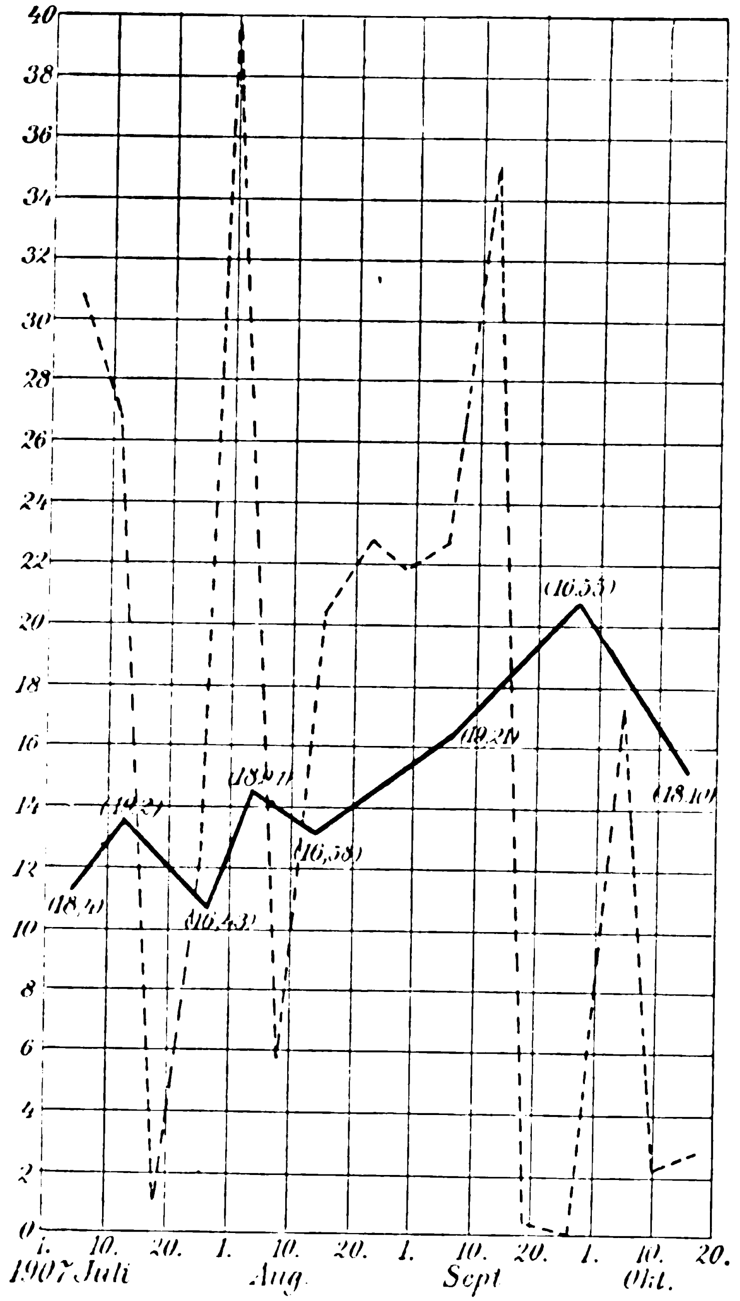
Die Parzelle 21 (Tab. 6) des Versuchsfeldes war im Jahre 1906 mit Hafer bestellt. Im Herbst 1906, am 7. November, wurde Stallmist, 200 Zentner pro Morgen, untergepflügt. 1907 trug sie Kartoffeln und 1908 Winterweizen. Die Kartoffeln wurden am 9.—10. Juli behäufelt, am 2.—5. Oktober gerodet. Am 10. Oktober wurde flach gepflügt, und am 12. Oktober 1907 Winterweizen bestellt.

Die Parzelle Ia (Tab. 4) blieb im Jahre 1907 wie 1908 unbebaut und unbearbeitet.

Die Ergebnisse der Zählungen zeigen ganz eklatant den großen Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Bakterienzahl. Besonders läßt diesen die unbebaute Parzelle Ia (Tab. 4, Kurventaf. A) in der Zeit vom 4. Juli bis zum 6. September 1907 hervortreten. Schon geringe Schwankungen im Wassergehalte bewirken Veränderungen in der Bakterienzahl. Da in der Zeit vom 2.—15. September sehr starke Niederschläge zu verzeichnen waren, so dürfen wir annehmen, daß die vom 14. August bis 6. September hervortretende Steigerung der Bakterienzahl sich noch mindestens bis zum 15. September fortgesetzt hat. Dann folgte aber eine regenlose Periode, und die Bodenfeuchtigkeit nahm ab. Während der Boden am 6. September einen Wassergehalt von 19,2 Proz. hatte, betrug dieser am 26. September nur 16,6 Proz. Diesem Wasserverlust

Kurventafel A.

Parzelle Ia.



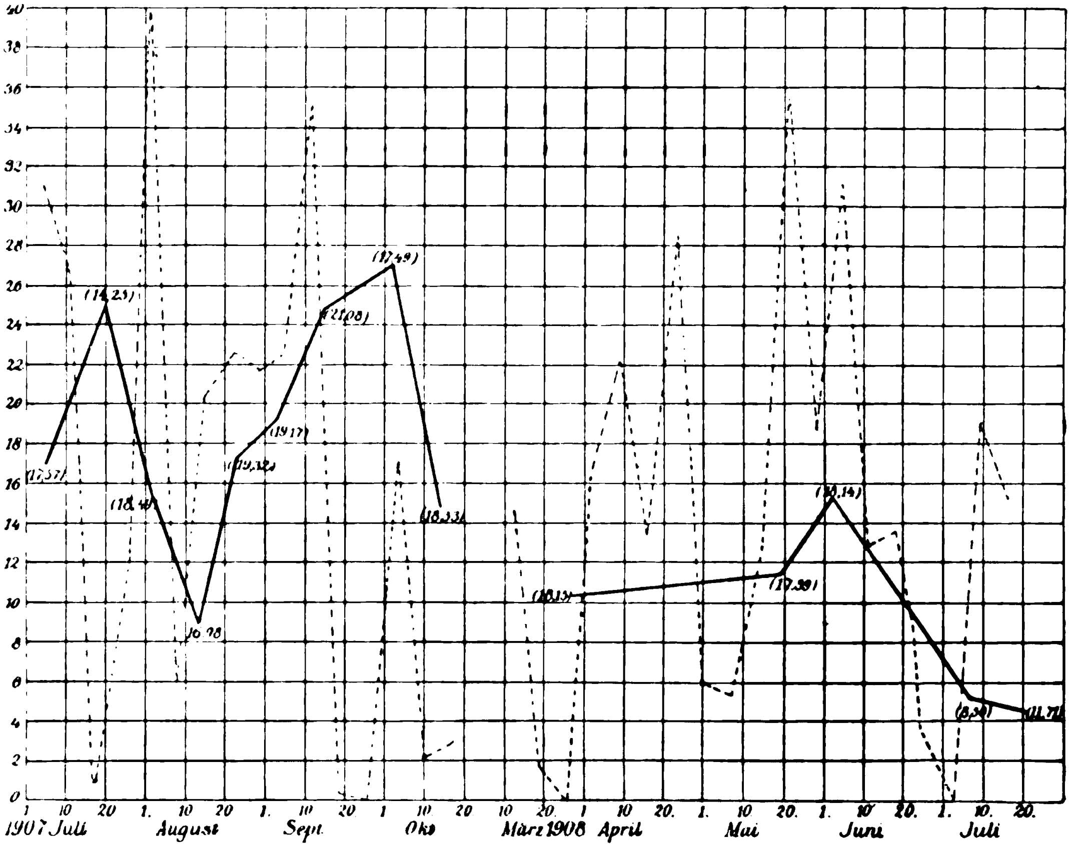
Ordinate: 1) Niederschlagsmenge pro Woche in mm - - -
2) Bakterienzahl pro 1 g Boden in Millionen ———
Abscisse: Datum.

der Ackerkrume konnte die Abnahme der Bakterienzahl nicht gleichen Schritt halten. So kommt es, daß wir am 26. September bei einem ziemlich geringen Feuchtigkeitsgrade des Bodens noch eine um 4 Mill. höhere Keimmenge als am 6. September vorfinden. Am 15. Oktober trat aber der Rückgang der Bakterienzahl sehr deutlich in die Erscheinung. Der relativ hohe Wassergehalt des Bodens ist eine Folge der Niederschläge vom 6. Oktober.

Die Parzellen 15 und 21 (Tab. 5 und 6) zeigen stärkere Schwankungen in der Bakterienzahl als die unbebaute und unbearbeitete Parzelle Ia. Die trotz des relativ niedrigen Wassergehaltes am 20. Juli 1907 im

Kurventafel B.

Parzelle 15.

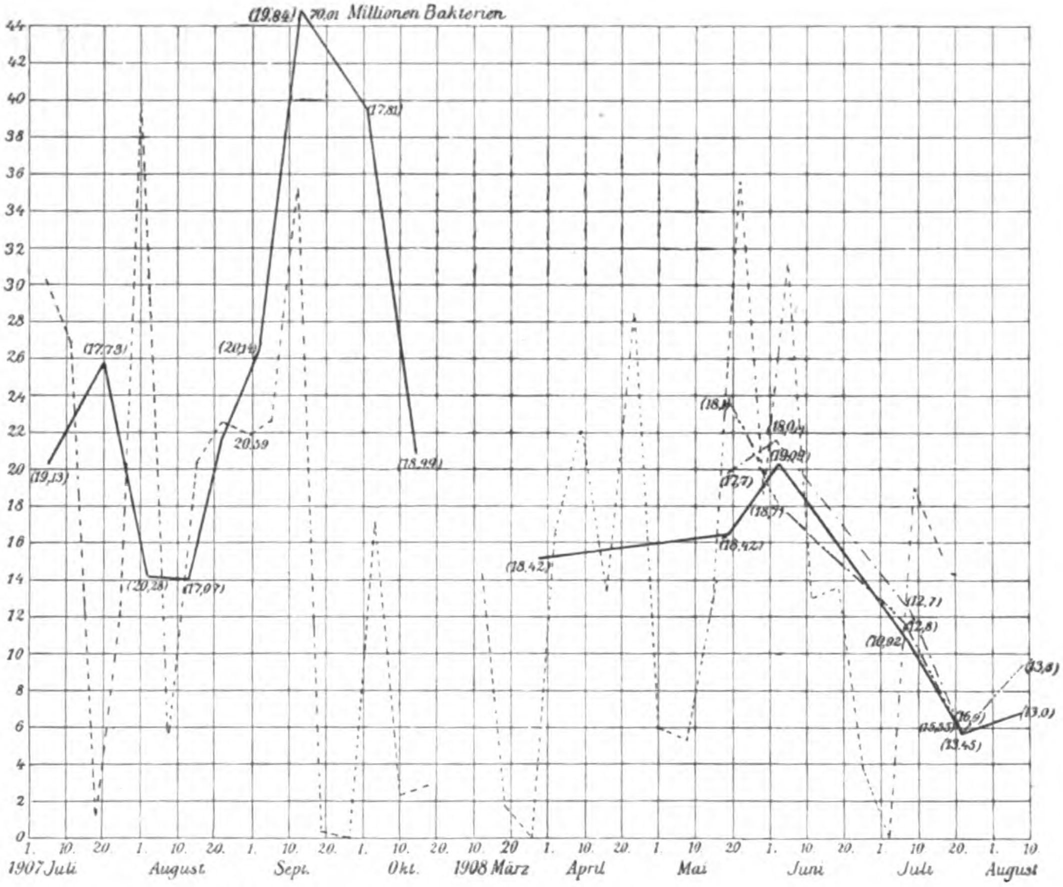


Ordinate: 1) Niederschlagsmenge pro Woche in mm ------
2) Bakterienzahl pro 1 g Boden in Millionen ———

Abscisse: Datum.

Boden der Parzelle 15 noch vorhandene hohe Keimzahl läßt sich vielleicht auf dieselbe Weise erklären wie die bei der Parzelle Ia am 26. September gemachte Beobachtung. Daß für die am 2. Oktober gefundene hohe Bakterienzahl der Parzelle 15 ähnliches gilt, ist anzunehmen. Bemerkenswert ist bei den Parzellen 15 und 21 (Kurventafeln B und C) das Absinken der Bakterienzahl in der Zeit vom 2. bis 14. Oktober, das, wie die Kurventafel B andeutet, schon eintritt, wenn der Wassergehalt des Bodens von 21 Proz. auf 17,5—18,5 Proz. heruntergeht. Im Ackerboden unseres Versuchsfeldes wirkt demnach ein Wassergehalt von 21 Proz. günstiger auf die Heyden-Agar-wüchsigen Bakterien ein als ein solcher von 17,5—18,5 Proz. Die nicht unbedeutende Steigerung der Bakterienzahl der Parzellen 15 und 21 in der Zeit vom 13. Aug. bis 15. Sept. 1907 ist sicher analog der Zunahme der Bakterienzahl in der unbebauten Parzelle Ia in erster Linie auf die günstige Wirkung der hohen Bodenfeuchtigkeit zurückzuführen. Die Entwickelung der Bakterien ist in jenen Parzellen vielleicht noch durch die Zersetzung von Stoppelrückständen bezw. die Fäulnis des welken Kartoffelkrautes befördert worden.

Kurventafel C.



Ordinate: 1) Niederschlagsmenge pro Woche in mm - - - - - - - - - -

2) Bakterienzahl pro 1 g Boden in Millionen

———————— Parz. 21. Herbst 1906
— · — · — · — · Parz. 18a. Herbst 1907
— ·· — ·· — ·· — ·· Parz. 18b. Frühjahr 1908

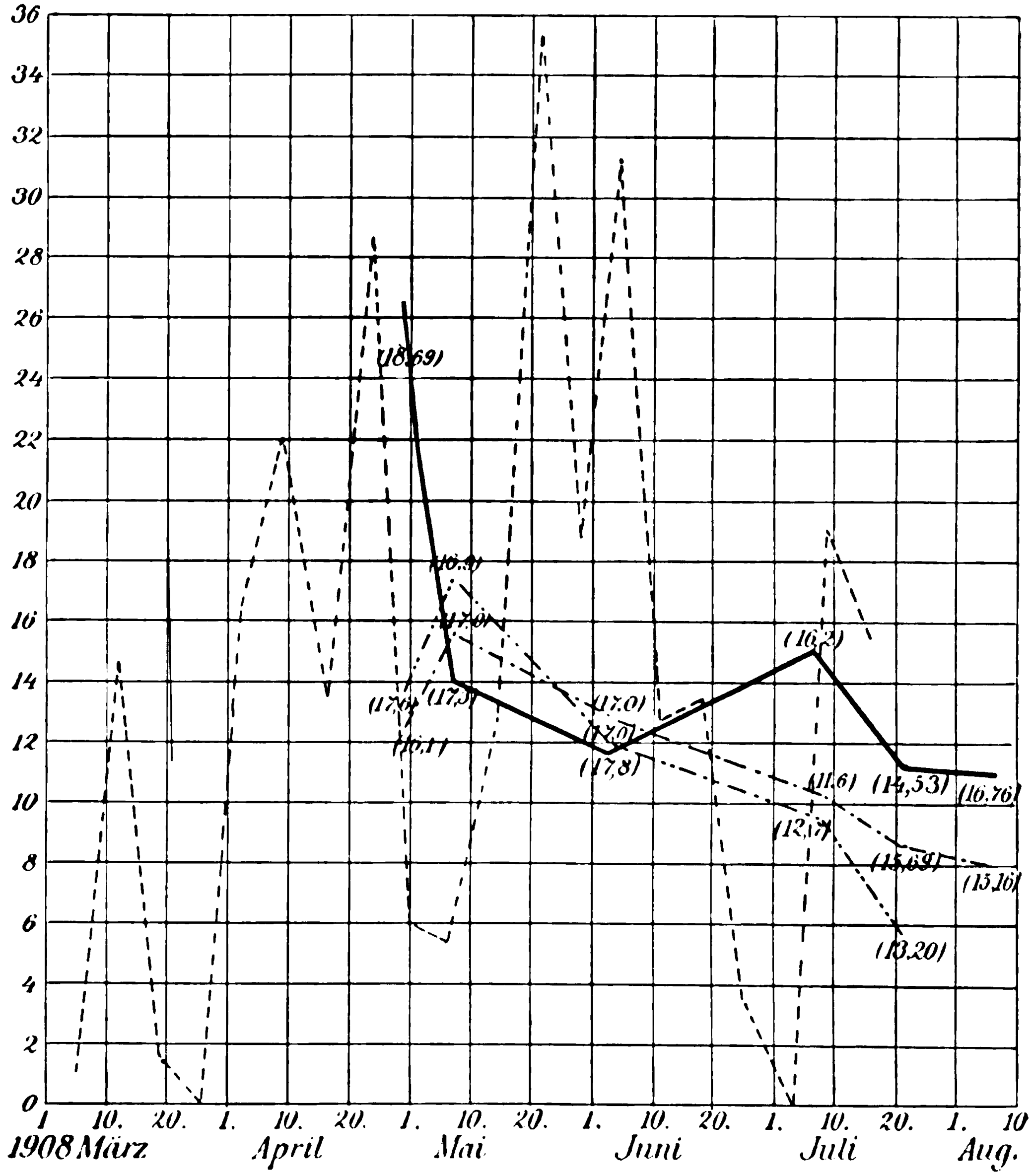
} Stallmistdüngung

Abscisse: Datum.

Im Jahre 1908 haben wir die unbebaute Parzelle Ia nur wenige Male untersucht. Bei den Parzellen 15 und 21 nahm infolge nicht unbedeutender Regenfälle der Wassergehalt des Bodens und die Bakterienzahl vom 18. bezw. 19. Mai bis 2. Juni 1908 zu. Alsdann trat mit der im Juni einsetzenden Trockenheit bis zum 6. Juli ein bedeutender Rückgang in der Bakterienzahl ein, der besonders stark auf der Parzelle 15 war, denn hier war der Feuchtigkeitsgehalt des Bodens durch den hohen

Wasserverbrauch der Pferdebohnen besonders stark heruntergedrückt. Während nun vom 6. bis zum 21. Juli die Bakterienzahl auf der Parzelle 15 sich ungefähr gleich blieb, ging sie aus uns unbekannter Ursache auf der mit Winterweizen bestandenen Parzelle 21 trotz einer Erhöhung des Wassergehaltes von 10,9 auf 13,5 Proz. noch weiter zurück. Am

Kurventafel D.



Ordinate: 1) Niederschlagsmenge pro Woche
in mm – – – – – –
2) Bakterienzahl pro 1 g Boden
in Millionen { ——— Brache 8b
– · – · – · – · Gerste 10b
– · · – · · – · · Rüben 10a.

Abscisse: Datum.

6. August war sie bei gleicher Bodenfeuchtigkeit ebenso hoch wie am 21. Juli.

Es geht also aus den Teller- wie den Parzellenversuchen eine sehr weitgehende Abhängigkeit der Bakterienzahl von der Bodenfeuchtigkeit hervor.

Im Anschluß an die Versuche über den Einfluß des Wassergehalts auf die Bakterienzahl sei noch kurz die von manchen Seiten, namentlich von Caron, beobachtete Abhängigkeit der Keimmenge im Boden von der Ueberfrucht erörtert. Unsere nach dieser Richtung hin angestellten Beobachtungen zeigen, daß, wie schon Remy[1]) fand, die Ueberfrucht jedenfalls einen tiefergehenden direkten Einfluß auf die Zahl der Bakterien im Ackerboden nicht ausübt. Darauf deuten zunächst die periodischen Untersuchungen der Feldparzellen 15 und 21 (vgl. die Tab. 5 und 6; Kurventafeln B und C) hin. Wie erwähnt, trug die Parzelle 15 im Jahre 1907 Sommergerste, die im vorhergehenden Jahre mit Stallmist gedüngte Parzelle 21 Kartoffeln; die eine also Halmfrucht, die andere Blattfrucht. Die Bewegungen der Bakterienzahl lassen nichtsdestoweniger kaum sehr wesentliche Unterschiede erkennen; stets tritt in erster Linie die sehr weitgehende Abhängigkeit der Bakterienzahl von der Bodenfeuchtigkeit hervor. Aehnliches zeigen im Jahre 1908 die Parzellen 10a (Rüben) und 10b (Sommergerste) (vgl. Tab. 10, Kurventafel D). Beide Parzellen waren in den 3 vorhergehenden Jahren in genau gleicher Weise behandelt worden. 1905 trugen sie Runkelrüben, 1906 Hafer und 1907 lagen sie brach; 1908 dagegen war, wie erwähnt, die eine mit Runkelrüben, die andere mit Sommergerste bestanden. Auch hier bewirkten Halmfrucht und Blattfrucht bis Anfang Juli keine nennenswerten Unterschiede. Bei den Untersuchungen vom 21. Juli wies die mit Sommergerste bestandene Parzelle eine höhere Bakterienzahl auf als die Rübenparzelle. Die Erhöhung liegt schon ziemlich weit außerhalb der Fehlergrenze. Wie die Tabelle zeigt, ist die Steigerung der Bakterienzahl in 10b auf den höheren Wassergehalt dieser Parzelle gegenüber 10a zurückzuführen, eine Folge davon, daß die Sommergerste von 10b sich schon der Reife näherte und kaum noch viel Wasser verbrauchte.

Wir ersehen also aus diesen Ausführungen, daß der namentlich von Caron beobachtete Einfluß der Ueberfrucht sich in erster Linie aus der großen Abhängigkeit der Bakterienzahl von der Bodenfeuchtigkeit erklärt.

§ 7. Der Einfluß der Temperatur.

Der Einfluß der Temperatur auf die Zahl der Bakterien im Ackerboden ist schon von verschiedenen Seiten untersucht worden. Remy[2]) hat darauf hingewiesen, daß die Zahl der gelatinewüchsigen Bakterien im Ackerboden beim Uebergang vom Winter zum Sommer infolge der zunehmenden Temperatur stark anwächst. Die Untersuchungen von Fabricius und v. Feilitzen[3]) zeigen deutlich, daß der Gehalt eines Hochmoorbodens an gelatinewüchsigen Keimen durchaus parallel läuft mit der Bewegung der Bodentemperatur. Dagegen läßt sich aus den

---

1) Remy, l. c.

2) Remy, l. c. p. 763.

3) Fabricius und v. Feilitzen, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905.

Untersuchungen von Hiltner und Störmer[1]) ein Einfluß der Temperatur auf die Bakterienzahl im Boden nicht ableiten, sofern nur der Boden frostfrei ist.

Wir untersuchten den Einfluß der Temperatur sowohl an Tellerversuchen im Laboratorium als an Feldparzellenversuchen. Die Teller bewahrten wir teils bei 10° C, teils bei 20° C auf. Am Anfang sowie nach einiger Zeit bestimmten wir dann die Bakterienzahl. Bei den Tellerversuchen vom 28. Januar 1908 (Tab. 7) hat die Temperatur von 20° C eine allerdings nur wenig schnellere Entwickelung der Bakterien im Boden veranlaßt als die Temperatur von 10° C. Dasselbe Bild zeigen zunächst die Versuche vom 25. Februar 1908 (Tab. 8). Am 5. März tritt bei diesen die beschleunigte Vermehrung der Bakterien infolge der höheren Temperatur in geringem Grade hervor. Am 18. und 20. März ist dagegen ein Unterschied in der Keimzahl nicht mehr wahrzunehmen. Auch dort, wo die Temperatur die größten Unterschiede ergab, liegen diese nur wenig außerhalb der angenommenen Fehlergrenze oder gar noch innerhalb derselben. Die Temperatur übt demnach innerhalb der Grenzen, in denen sie sich in unserem Boden während der wärmeren Jahreszeit, von April, Mai an, im allgemeinen zu bewegen pflegt — Temperaturen über 20° C waren in den beiden letzten Jahren im Göttinger Boden in 10 cm Tiefe nicht so sehr häufig, in den oberen Schichten werden sie natürlich höher gewesen sein — einen nur sehr unwesentlichen Einfluß auf die Vermehrung der Bakterien aus.

Aus den periodischen Untersuchungen des Feldbodens (Tab. 4, Parzelle Ia; Tab. 5, Parzelle 15) scheint dasselbe hervorzugehen. Allerdings darf man bei diesen nur solche Zahlen berücksichtigen, bei denen ein eventueller Einfluß verschiedener Bodenfeuchtigkeit möglichst ausgeschaltet wird. Es sei deshalb darauf hingewiesen, daß wir auf Parzelle Ia am 15. Oktober 1907 bei einer Bodentemperatur von 13° C eine ebenso hohe, wenn nicht höhere Bakterienzahl vorfanden als am 4. Juli, 12. Juli oder 13. August 1907, trotzdem sich die Bodentemperatur um diese Zeit zwischen 15° C und 17° C bewegte, demnach einige Grade, allerdings nur sehr wenige, höher war als am 15. Oktober.

Die Frage, wie verschiedene Temperaturen auf die Lebensdauer der Bakterien einwirken, haben wir nur nach der Seite hin untersucht, ob vielleicht der Frost die Bakterienzahl im Boden beeinflußt. Eine schädliche Wirkung des Frostes beobachteten teilweise Hiltner und Störmer. A. Koch[2]) konnte zeigen, daß durch sehr starken Frost die stickstoffbindende Kraft des Bodens herabgesetzt wird. Leider konnte ich eingehende Versuche über den Einfluß des Frostes auf die Zahl der Bakterien unserer Versuchsparzellen nicht ausführen, da ich von Ende Oktober bis in den Januar hinein an der Fortsetzung meiner periodischen Untersuchungen behindert war. Während des Frostes wurde nur zweimal, am 9. und 28. Januar, ungefähr an derselben Stelle der Parzelle 15 je eine Erdprobe entnommen; die Probenahme ließ also zu wünschen übrig. Es zeigte sich dabei, daß die Bakterienzahl trotz längerer Einwirkung des Frostes mindestens so hoch war wie im Sommer. Hat der Frost keinen Einfluß gehabt, so würde das im Einklange stehen mit den Er-

---

1) Hiltner und Störmer, l. c.

2) Koch, A., Litzendorff, Krull, Alves, Journ. f. Landw. 1907. p. 355ff.

fahrungen, welche **Macfadyen** und **Rowland**[1]) bei künstlicher Einwirkung sehr niederer Temperaturen auf die Bakterien gemacht haben. Tatsächlich deutet aber der Befund vom 27. März darauf hin, daß Frost mit einer nachfolgenden längeren Einwirkung einer ziemlich niederen Bodentemperatur die Zahl der Bakterien im Boden herunterdrückt, denn es ist nach den Ergebnissen der Zählungen vom 2. Juni 1908, sowie derjenigen vom Jahre 1907 nicht anzunehmen, daß, abgesehen von der niederen Temperatur im Januar, Februar und März, andere Faktoren die Zahl der Bakterien ungünstig beeinflußt haben. Der Wassergehalt des Bodens kann die Schädigung jedenfalls nicht bewirkt haben, da dieser trotz der geringen Regenfälle des Märzmonats noch 18,15 Proz. beträgt, somit ebenso hoch ist wie am 2. August und 14. Oktober 1907 und am 2. Juni 1908. Auch die Untersuchung der Parzelle 21 vom 28. März 1908 (Tab. 6) läßt vielleicht auf eine Schädigung durch Frost und darauffolgende längere Einwirkung niederer Temperatur schließen.

Wie ist es nun zu erklären, daß, wie wir in Uebereinstimmung mit **Hiltner** und **Störmer** fanden, im gewöhnlichen mineralischen Ackerboden die Temperatur ohne stärkere Wirkung auf die Zahl der Bakterien bleibt, solange der Boden nur frostfrei ist, während in dem von **Fabricius** und v. **Feilitzen** untersuchten Hochmoorboden die Bakterienzahl mit der Temperatur steigt und fällt? Sofort denkt man dabei an die naturgemäß sehr großen Unterschiede in der physikalischen und chemischen Beschaffenheit beider Böden, vor allem an den viel größeren Reichtum des Hochmoorbodens an Wasser und organischen Substanzen gegenüber dem gewöhnlichen Ackerboden. Man könnte danach annehmen, daß die Bakterienzahl im Moorboden eine höhere ist. Wie auch **Fabricius** und v. **Feilitzen** bemerkte, blieb sie jedoch in ihrem Hochmoorboden hinter den von **Hiltner** und **Störmer** im Durchschnitt gewonnenen Werten (d. h. 9,55 Mill. Bakterien pro 1 g Boden) zurück. Sie erreichte selbst nach starker Kalkung nicht die von uns in unserem Ackerboden ermittelten Zahlen. Man könnte daher vielleicht daran denken, daß die organische Substanz des Hochmoorbodens den Bakterien sehr wenig zusagt. Unter der Voraussetzung, daß die Resultate von **Fabricius** und v. **Feilitzen** völlig einwandfrei sind, woran kaum ein Zweifel erlaubt ist, würde das verschiedene Verhalten der Bakterien im Ackerboden und Hochmoorboden also darauf hindeuten, daß der Wassergehalt des Bodens und vielleicht auch der Gehalt an organischen Substanzen maßgebend für den Einfluß der Temperatur auf die Bakterien wären. Erst der hohe Wassergehalt würde im Moorboden die Reaktion auf die Einwirkung der Temperatur ermöglichen; im mineralischen Ackerboden würden dagegen der naturgemäß relativ geringe Feuchtigkeitsgrad oder der geringe Gehalt an organischen Substanzen bald der an und für sich günstigen Wirkung höherer Temperatur ein Grenze setzen, eine wesentliche Zunahme der Bakterienzahl würde daher nicht eintreten. Zu bemerken ist, daß der gewöhnliche Ackerboden sich bezüglich des Einflusses der Temperatur bei einem sehr hohen Wassergehalt wahrscheinlich anders verhalten würde als der Moorboden, da zu große Bodenfeuchtigkeit die physikalische Beschaffenheit des Ackerbodens verschlechtert und den Luftzutritt hemmt. Wir würden somit aus den verschiedenen Ergebnissen der Versuche von **Hiltner** und **Störmer** sowie von uns einerseits, von **Fabricius** und v. Feilitzen andererseits ersehen, daß selbstverständlich wie alle Lebensvorgänge auch die Bakterien in ihrer Vermehrung von einem Komplex verschiedener gleichzeitig wirkender Bedingungen abhängig sind, und daß, sobald die eine davon im Minimum vorhanden ist, der Einfluß der anderen Bedingungen nicht mehr voll ausgenutzt werden kann.

---

[1]) **Macfadyen** und **Rowland**, zit. nach **Lafar**, Handb. d. techn. Mykol. Bd. I. p. 466.

§ 8. Der Einfluß der Bodenbearbeitung.

Das Ziel der landwirtschaftlichen Bodenbearbeitung ist die Herstellung der Krümelstruktur und der Bodengare [vgl. v. Rümker[1]]. Unter Bodengare versteht v. Rümker im Anschluß an Droop[2]) einen Zustand des Bodens, in welchem bei guter Durchlüftung die Einwirkung der Atmosphärilien eine möglichst ausgiebige und die Organismentätigkeit am lebhaftesten ist. Erfahrungsgemäß wird die Bodengare auf schwereren Böden am vollkommensten durch eine zweckmäßig durchgeführte Schwarzbrache erreicht.

Darauf, daß die Organismentätigkeit während der Brache eine besonders rege ist, deuten schon Wollnys[3]) Untersuchungen hin, nach denen ein Bracheboden viel größere Kohlensäuremengen produziert als ein mit Gras bestandener. Die Steigerung der Stickstoffbindung in einer durch Umschaufeln gelüfteten Erde wies u. a. A. Koch[4]) nach. W. Krüger[5]) beobachtete mit Hilfe des Umsetzungsversuches nach Remy im durchlüfteten Boden bei humoser und lehmiger Erde ebenfalls eine stärkere Stickstoffbindung durch Bakterien. Den größeren Reichtum des Brachebodens an Bakterien gegenüber einem mit Halm- oder Blattfrüchten bestandenen Boden konstatierte Caron[6]). Hiltner und Störmer[7]) konnten Carons Befunde allerdings nicht bestätigen. Wenigstens beobachteten sie bei einer Parzelle, die zwei Jahre lang ein Klee-Gras-Gemisch getragen hatte und dann im Frühjahr geschält und tief gepflügt worden war, eine geringere Bakterienzahl als bei der Kontrollparzelle, welche die gleiche Vorfrucht hatte und unbearbeitet blieb. Krüger und Heinze[8]) stellten bei ihren in dem trockenen Jahre 1904 vorgenommenen ausgedehnten Untersuchungen wieder eine Zunahme der gelatinewüchsigen Keime durch Brachebearbeitung fest; die zweite und dritte Bearbeitung drückte aber die Menge der Keime herab.

Zu unseren Versuchen (Tab. 9) stand uns zunächst eine Feldparzelle zur Verfügung, die im Jahre 1906 mit weißem Senf bestanden war und 1907 brach lag. Auf dieser wurden im Frühjahr 1908 zwei nebeneinanderliegende Parzellen (II und III) abgegrenzt und die eine der beiden (Parzelle II) am 5. Mai und 10. Juli umgegraben. Nach der ersten Bearbeitung war die Bakterienzahl der bearbeiteten Parzelle II bei der Untersuchung am 8. Mai höher als die der Parzelle III; am 11. Mai fällt der Unterschied nicht mehr außerhalb der angenommenen Fehlergrenze. Der Befund vom 8. Mai deutet auf einen geringen Einfluß der durch die Bearbeitung bedingten besseren Durchlüftung des Bodens hin, denn die Bakterienzahl fällt vom 4.—8. Mai im nichtbearbeiteten Boden und bleibt im bearbeiteten Boden gleich. Bis zum 11. Mai haben sich die Unterschiede wieder etwas ausgeglichen. Am 7. Juli war die Keimmenge bei beiden Parzellen gleich. Nach der zweiten Bearbeitung am 10. Juli stieg der Wassergehalt in der bearbeiteten Parzelle stärker als in der unbearbeiteten, und dementsprechend war auch die Bakterienzahl höher. Die Steigerung der Bakterienzahl ist in diesem Falle also in erster Linie eine Begleiterscheinung des höheren Feuchtigkeitsgrades des bearbeiteten Bodens. Daß ein bearbeiteter Boden eine höhere wasserhaltende Kraft hat als ein unbearbeiteter, was z. B. von A. Koch 1) nachgewiesen wurde, tritt also auch hier hervor. Die von A. Koch festgestellte, durch Umschaufeln, also durch häufige und gründliche Bearbeitung des Bodens, bewirkte Erhöhung der wasserhaltenden Kraft ist nicht gering; sie belief sich auf 20 Proz. Diese höhere wasserhaltende Kraft wird sich natürlich besonders in trockenen Jahren bemerkbar machen.

---

[1]) v. Rümker, Der Boden und seine Bearbeitung. 3. Aufl. 1907. p. 34, 57.

[2]) Droop, Die Brache. Bd. I. 1900.

[3]) Wollny, Forschungen a. d. Gebiete d. Agrikulturphysik. 1880; zit. nach Lafar Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 465.

[4]) Koch, A., Vortrag gehalten in der ökonom. Gesellsch. im Königr. Sachsen am 4. Dez. 1903; zit. nach Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 18 ff.

[5]) Krüger, W., Diss. Königsberg. 1908.

[6]) Caron, Landw. Versuchsstat. 1895.

[7]) Hiltner und Störmer, l. c.

[8]) Krüger und Heinze, l. c.

Aehnliches wie die Untersuchungen der Parzellen II und III zeigen auch diejenigen über den Bakteriengehalt eines anderen Brachebodens (Tab. 10, Parzelle 8 b, Kurventafel D). Zu diesen Untersuchungen dienten einige Parzellen einer Brachefruchtfolge des Versuchsfeldes. Die Parzelle 8 b trug im Jahre 1907 Sommergerste; 1908 lag die Parzelle brach. Am 4. Mai wurde noch eine tiefe Brachfurche gegeben; am 17. Juni wurde die Parzelle mit dem Federzahnkultivator gekrümmert. — Bei der Parzelle 10 folgten der Schwarzbrache des Jahres 1907 im Jahre 1908 auf der einen Hälfte der Parzelle, auf 10 a, Runkelrüben, auf der anderen, auf 10 b, Sommergerste. Die 1908 mit Runkelrüben bestandene Parzelle 10 a wurde am 4. Mai mit dem Federzahnkultivator, mit der Cambridgewalze usw. behandelt und mit Rüben bestellt; später wurde sie mehrfach gehackt. Die Sommergerste der Parzelle 10 b wurde am 28. März 1908 gedrillt und am 3. August gemäht.

Bemerkenswert ist das Resultat der Untersuchung vom 29. April 1908. An diesem Tage war die Bakterienzahl von 8 b etwa doppelt so groß als von 10 a und 10 b. Die betreffenden Befunde stellen die arithmetischen Mittel der Endergebnisse von Untersuchungen zweier Bodenproben (Durchschnittsproben) dar:

	Endergebnisse der Untersuchungen	Arithmetisches Mittel
Parzelle 8 b	27,54 Mill. Bakterien	26,12 Mill. Bakterien
Brache	24,70 „ „	
Parzelle 10 a	13,01 „ „	12,80 „ „
Runkelrüben	12,58 „ „	
Parzelle 10 b	12,04 „ „	12,35 „ „
Sommergerste	12,66 „ „	

Der Unterschied in der Bakterienzahl der Parzellen 8 b und 10 a bietet um so mehr Interesse, als diese seit Herbst 1907 ungefähr die gleiche Behandlung erfahren haben. Nichtsdestoweniger war auch das Aussehen der beiden Feldböden ein ganz verschiedenes. — Der Boden der Par-

---

1) Koch, A., zit. nach Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 19.

zelle 10a erschien am 29. April relativ trocken und war außerordentlich locker. Bei der Rübenbestellung am 4. Mai wurde der Boden durch die Behandlung mit der Cambridgewalze ziemlich stark komprimiert. Die Parzelle 8b war im Herbst 1907 im Gegensatz zu 10a in ziemlich nassem Zustande gepflügt worden. Infolgedessen war sie am 29. April fester und etwas feuchter als 10a und zeigte den bekannten grünen Schimmer, der in diesem Falle zum größten Teile durch Moosprotonema hervorgerufen wurde. Die Frühjahrsfurche erfolgte am 4. Mai.

Der um nur 1 Proz. höhere Wassergehalt von 8b gegenüber 10a kann allein nicht eine ausreichende Erklärung für die am 29. April beobachtete hohe Bakterienzahl abgeben.

Eine andere Erklärung ermöglicht die Erscheinung, daß die Parzelle 8b am 29. April begrünt war; ferner das Verhalten der Bakterienzahl von 8b gegenüber 10a und 10b in der Zeit vom 29. April bis zum 7. Mai. Das letztere läßt nämlich ebenfalls einen Unterschied erkennen. Während bei Parzelle 10a die Bakterienzahl nach der Rübenbestellung um 5 Millionen höher war als am 29. April, nahm sie bei der brachliegenden Parzelle 8b nach der am 4. Mai gegebenen Brachfurche bis zum 7. Mai um die Hälfte ab und war an diesem Tage demzufolge sogar um 3 Millionen niedriger als bei der Parzelle 10a und annähernd gleich mit der Keimmenge der mit Sommergerste bestandenen Parzelle 10b. Am 2. Juni war die Bakterienzahl auf allen 3 Parzellen ungefähr gleich hoch.

Welchen Einfluß kann nun die Begrünung von 8b auf die Bakterienzahl ausüben?

Da, wie später zu zeigen, mit der Menge der Kohlehydrate im Boden die Zahl der auf Heyden-Agar wachsenden Bakterien (ebenfalls wie nach A. Koch[1]) die Menge der stickstoffbindenden Bakterien — Azotobacter —) steigt, so ist die Vermutung wohl nicht unberechtigt, daß wir in der hohen Bakterienzahl des Brachebodens der Parzelle 8b am 29. April 1908 ein Analogon zu der von P. Kossowitsch[2]) nachgewiesenen Tatsache haben, daß die Algen im Gemisch mit den Bakterien eines Bodens den stickstoffassimilierenden Bakterien Kohlehydrate liefern, welche sie im Lichte durch C-Assimilation gebildet haben. Tatsächlich hat ja u. a. auch schon Hellriegel gezeigt, daß in Bodenschichten, welche mit Algen besiedelt sind, Stickstoff festgelegt wird. Neuerdings haben besonders Dehérain und Demoussy sowie Bouilhac und Giustiniani eine durch Algen und Bakterien bewirkte bedeutende Stickstoffanreicherung des Bodens nachgewiesen und ihre Befunde durch Kulturversuche mit höheren Pflanzen ergänzt. Bei unseren Untersuchungen des Brachebodens wird Moosprotonema die Rolle der Algen vertreten haben. Daß die Entwickelung eines Gemisches von Moosen und Algen die Tätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien begünstigt, zeigen Versuche von Schloesing und Laurent[3]); in einem nur mit Moosen bepflanzten Boden erzielten diese Autoren dagegen keine Stickstoffbindung. Wir gründen unsere Anschauung, daß die Assimilationsprodukte des

---

[1]) Koch, A., Litzendorff, Krull, Alves, Journ. f. Landw. 1907.

[2]) Kossowitsch, P., Botan. Zeitung. Bd. LII; zit. nach Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 13.

[3]) Schloesing nnd Laurent, zit. nach Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. III. p. 12.

Moosprotonemas und der wenigen Algen, die vielleicht den Boden bedeckten, die hohe Bakterienzahl bedingt haben, vor allem darauf, daß nach der Brachfurche, welche die Moosvegetation rasch vernichtete und die Quelle der Kohlehydrate zum Versiegen bringen mußte, wie erwähnt, auch die Bakterienzahl schnell zurückging, sich der Menge der Bakterien der Parzellen 10a und 10b näherte und mit dieser ungefähr so lange auf gleicher Höhe blieb, wie der Wassergehalt des Bodens ungefähr derselbe war. In keinem anderen Falle haben wir eine nur durch das Umpflügen bezw. Umgraben hervorgerufene Verminderung der Zahl der Bakterien im Boden eintreten sehen, weder bei der Parzelle 15 nach der am 4. September 1907 gegebenen Pflugfurche, noch bei der Parzelle 21 nach dem 12. Oktober (vgl. dazu die Abnahme der Bakterienzahl bei Parzelle 15), noch bei der Parzelle II nach der Bearbeitung vom 5. Mai, die also ungefähr in dieselbe Zeit fällt, wie die Bearbeitung von Parzelle 8b. Es wurde auch, abgesehen von der bemerkbaren schwachen Entwickelung von Algen und Moosen auf der Parzelle 21 im Herbst 1907, niemals vor der Bearbeitung eine Begrünung des Ackers durch diese Pflanzen wahrgenommen.

Die auf der Parzelle 8b nach der Brachfurche eingetretene Verminderung der Bakterienzahl auf die Hälfte wird vielleicht auch teilweise dadurch mitbedingt sein, daß der Wassergehalt infolge der Bearbeitung um 1,3 Proz. zurückging; indessen hat auch auf der Parzelle 10a der Wassergehalt um 0,6 Proz. abgenommen.

Auf den 3 Parzellen 8a, 10a und 10b fand sich, wie schon erwähnt, am 2. Juni 1908 bei ungefähr gleichem Wassergehalt annähernd die gleiche Bakterienzahl. Nach dem 2. Juni setzte aber bald eine an Niederschlägen ziemlich arme Periode ein; infolgedessen nahmen die Bodenfeuchtigkeit und die Keimzahl auf den mit Rüben bezw. Sommergerste bestandenen Parzellen 10a und 10b ab. Der noch am 17. Juni mit dem Federzahnkultivator behandelte Bracheboden verlor nur wenig Wasser, und die Bakterienzahl stieg noch bis zum 6. Juli. Mit abnehmendem Wassergehalt wurde dann auch hier die Keimzahl geringer; auch bei der Gersten- und besonders der Rübenparzelle ging sie in derselben Zeit herunter. Wir haben demnach hier wieder eine Bestätigung dafür, daß der Einfluß der Bodenbearbeitung auf die Bakterienzahl in allererster Linie auf einer Wirkung der Bodenfeuchtigkeit beruht. Der höhere Wassergehalt des Brachebodens ist hier wohl besonders eine Folge davon, daß durch die Behandlung mit dem Federzahnkultivator der kapillare Wasseraufstieg gehemmt und dadurch die Verdunstung herabgesetzt worden ist.

Zusammenfassend können wir sagen, daß wir bei der Wirkung der Brache auf die Bakterienzahl den Hauptton zu legen haben auf die Wirkung der organischen Stoffe und der Bodenfeuchtigkeit.

Was den Einfluß organischer Substanzen anlangt, so wird, wie aus bald zu besprechenden Versuchen über die Einwirkung von Gründüngungssubstanz auf die Bakterien im Boden hervorgeht (vgl. § 9, p. 602), Unterbringung des Unkrautes die Bakterienzahl steigern. Begrünung des Bodens mit Moosprotonema und Algen ruft, wie nachgewiesen, eine Erhöhung der Bakterienzahl hervor; Zerstörung der Begrünung durch Umpflügen des Bodens usw. drückt die Keimmenge herab.

Von großer Bedeutung ist der Einfluß des Wassergehaltes; bei reichen Niederschlägen wird die Bodenfeuchtigkeit in einem bearbeiteten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Boden infolge seiner größeren wasserhaltenden Kraft stärker zunehmen als in einem unbehandelten; demgemäß ist dann auch die Bakterienzahl in dem bearbeiteten Boden eine größere. Trocknet der bearbeitete Boden (Bracheboden) aus, so geht natürlich auch die Bakterienzahl herunter. Bei seiner größeren wasserhaltenden Kraft wird aber der Wassergehalt im Bracheboden nicht so schnell abnehmen wie im unbehandelten Boden.

Der Haupteinfluß scheint demnach neben der organischen Substanz im Wassergehalte zu liegen. Etwas scheint aber auch die Luftzufuhr mitzuwirken. Darauf deutet das Resultat der Untersuchung der Parzellen II und III am 8. Mai 1908 (vgl. Tab. 9) hin, da hier die Veränderung der Bakterienzahl nicht mit einer entsprechenden Veränderung des Wassergehaltes in Beziehung gebracht werden kann.

Wir glauben mit diesen Resultaten den Schlüssel zu haben, mit dem es möglich ist, die Differenzen in den von Caron sowie Krüger und Heinze einerseits, in den von Hiltner und Störmer andererseits bei ihren Bracheuntersuchungen gewonnenen Ergebnissen zu erklären.

§ 9. Der Einfluß organischer Substanzen.

Wir besprechen jetzt unsere Versuche über den Einfluß organischer Substanzen auf die Bakterienzahl im Ackerboden. Zur Untersuchung kam der Einfluß von Zucker, Stroh, Gründüngungssubstanzen, Stallmist und Jauche.

Die günstige Wirkung organischer Substanz auf das Bakterienleben ist eine allbekannte Tatsache. Dementsprechend fanden wir nach der Behandlung des Bodens mit Rohrzucker und Dextrose eine enorme Erhöhung der Zahl der auf Heyden-Agar wachsenden Keime (Tab. 11, 12 und 13). Diese Erhöhung betrug nach dem Zusatz von 2 Proz. Rohrzucker zum Boden 1000—1500 Proz., nach dem Zusatz von 0,5 g Dextrose pro 100 g Boden erreichte sie 300—400 Proz. Wie sich herausstellte, geht die Bakterienzahl aber bald wieder sehr stark herunter. In dem mit 0,5 g Dextrose versetzten Boden (Tab. 13) ist sie sogar in einem Falle schon $2^1/_2$ Monate nach dem Zuckerzusatz kaum mehr höher als im Kontrollboden. Durch die Abnahme der Bakterienzahl wird die Verschlechterung der Lebensbedingungen zum Ausdruck gebracht. Diese wird zunächst wohl schon dadurch bewirkt, daß der Zucker allmählich aus dem Boden verschwindet. Bei den Versuchen von A. Koch konnte schon 9 Tage nach dem Zusatz von 2 Proz. Zucker dieser nicht mehr nachgewiesen werden. Jedenfalls wird ein Teil des Zuckers in schlechtere Nährstoffe, in organische Säuren usw. umgewandelt; ein anderer wird in Bakterienkörpersubstanz festgelegt; außerdem wird auch Kohlensäure gebildet. Die bei der Zuckerzersetzung entstehende Kohlensäuremenge ist natürlich eine recht bedeutende, ebenso wie die Bildung von organischen Säuren. Die Bestimmung der Kohlensäure ist besonders von Wollny als Maß für die zersetzende Tätigkeit der Bodenorganismen benutzt worden.

Die Zufuhr von Getreidestroh zum Boden begünstigt nach Hiltner und Störmer vor allem die Vermehrung der Streptothrix-Arten. Auch wir beobachteten bei der Untersuchung eines mit Stroh versetzten Bodens auf den Zählplatten sehr viele schimmelpilzartige Kolonieen. — A. Koch machte es wahrscheinlich, daß durch die Zufuhr

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

von Stroh zum Boden auch die Tätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien gefördert wird. Bei unseren Versuchen (vgl. Tab. 14) steigerte sich die Zahl der auf Heyden-Agar wachsenden Organismen nach dem Zusatz von Stroh zum Boden schon in kurzer Zeit bedeutend, um etwa 400 Proz. gegenüber dem Kontrollboden. Die Keimzahl nahm auch hier bald wieder ab, in dem einen Versuch aber bedeutend stärker als in dem anderen.

Wir kommen jetzt zu dem Einflusse von Gründüngungssubstanzen auf die Bakterienzahl im Boden. Die Bakterientätigkeit ist in einem mit solchen Substanzen gedüngten Boden eine sehr rege. Die Einbringung von Grünsubstanz und von anderen faulenden Stoffen in den Boden macht sich nach Hiltner und Störmer sofort durch eine starke Vermehrung der eiweißzersetzenden Keime bemerkbar. Den Abbau stickstoffhaltiger organischer Substanzen, wie Blutmehl, Knochenmehl, Kleie usw. im Boden verfolgte C. Hoffmann[1]). Nach seinen Beobachtungen ist dieser ganz allgemein direkt von der Zahl der anwesenden Bakterien abhängig. In dem Abbau treten häufige Schwankungen ein, die allgemein mit einer Steigerung oder Verminderung der Bakterienzahl Hand in Hand gehen. — Wir haben zu unseren Versuchen weißen Senf und Wicken benutzt. Der nach dem Zusatze von gemahlenem weißen Senf und von Wicken zum Boden in unseren Versuchen vom 21. Mai 1908 (Tab. 15, 16) eingetretenen Steigerung der Bakterienzahl, die noch etwas größer war als die durch Stroh hervorgerufene, folgte alsbald eine Abnahme, die besonders stark erscheint, wenn man die relativen Zahlen betrachtet, die aber auch absolut teilweise nicht unbedeutend ist. Natürlich werden zunächst die leichter zersetzlichen Substanzen verbraucht. Von den schwerer zersetzlichen war am 3. bezw. 4. August sowohl in dem mit Stroh wie mit Senf und mit Wicken versetzten Boden noch ein Teil vorhanden.

Mehrfach untersucht ist schon früher der Einfluß von Stallmist auf die Bakterienzahl im Ackerboden. Eine starke Vermehrung der gelatinewüchsigen Bakterien im Ackerboden nach einer Stallmistdüngung wies Remy nach. Die Steigerung der Keimzahl war nur eine vorübergehende. Daß Stallmistdüngung nicht nachhaltig wirkt, geht auch aus den von uns ausgeführten periodischen Untersuchungen der Feldparzellen 21, 18a und 18b (Tab. 17, Kurventafel B) hervor.

	Der Stallmist wurde	
	gebreitet	untergebracht
auf Parzelle 21	im Herbst 1906	Herbst 1906
„ „ 18a	„ „ 1907	„ 1907
„ „ 18b	„ „ 1907	Frühjahr 1908

Die Bewegungen der Bakterienzahl liefen auf der 1908 mit Winterweizen bestellten Parzelle 21 parallel denjenigen auf der Kartoffeln tragenden Parzelle 18a. Auf beiden Parzellen war die Bakterienzahl auch ungefähr gleich hoch. Es war also ohne Einfluß auf die Bakterienzahl, daß die Parzelle 18a die Stallmistdüngung ein Jahr später als die Parzelle 21 erhielt. Zwischen 18a und 18b ist einige Monate nach der Unterbringung des Stallmistes auf 18b ein Unterschied in der Bakterienzahl nicht mehr vorhanden.

---

[1]) Hoffmann, C., Ref. im Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1907. p. 343.

Ein **Jauche**zusatz zum Boden fördert die Entwickelung der Bakterien. Das scheint aus den Ergebnissen des Tellerversuches vom 10. Juli 1907 (Tab. 18) sowie der periodischen Untersuchungen der Parzellen Ia und Ib (Tab. 19) hervorzugehen. Das zeigen auch die Versuche vom 30. Juni 1908 (Tab. 20). Die Reihe vom 10. Juli ist nicht ganz zuverlässig, da die Untersuchungen des mit Jauche versetzten Bodens und des Kontrollbodens nicht gleichzeitig vorgenommen werden konnten. — Die in der Nähe eines Gebäudes belegenen, etwa 3 qm großen Versuchsparzellen Ia und Ib (Tab. 19) scheinen nicht ganz gleichmäßig zu sein, da der Wassergehalt von Ia durchweg höher war als von Ib. Die Erhöhung der Bakterienzahl nach der Jauchedüngung in Ib war zwar nicht sehr bedeutend, tritt in der Tabelle aber deutlich hervor. Schon nach $1^1/_2$ Monaten war sie verschwunden. — Die Tellerversuche vom 30. Juni 1908 wurden, wie die Tab. 20 zeigt, in der Weise durchgeführt, daß zwei Teller ohne Zusatz blieben, zwei andere je 20 ccm ganz schwach alkalischer Jauche und mit ihr 234 Millionen Bakterien, und schließlich zwei weitere Teller je 20 ccm mit Schwefelsäure neutralisierter, steriler Jauche erhielten. Die am 28. bezw. 29. Juli in allen vier mit Jauche versetzten Tellern im Vergleich zu den Kontrolltellern bemerkbare Steigerung bezw. verminderte Abnahme der Keimzahl war am 5. August in drei Fällen nicht mehr nachzuweisen; in einem Teller, dessen Boden einen Zusatz von steriler Jauche erhalten hatte, war aber an diesem Tage die Bakterienzahl bedeutend höher als im Kontrollteller. Im allgemeinen, sicher in diesem einen Falle, war die Bakterienzahl in den mit steriler, neutraler Jauche behandelten Tellern höher, als in den mit bakterienhaltiger alkalischer Jauche versetzten. Die Jauchebakterien haben sich demnach kaum vermehrt, vielleicht sind sie auch abgestorben.

§ 10. Der Einfluß verschiedener mineralischer Düngemittel.

Einen äußerst geringen Einfluß auf die Bakterienzahl übt im Göttinger Boden eine Düngung mit Mineralsubstanzen aus. Wir haben untersucht den Einfluß der Düngung mit N, K_2O, CaO, MgO und Superphosphat. In allen Fällen handelte es sich um Tellerversuche.

Wir besprechen zunächst die Wirkung von **Ammoniumsulfat** und **Natriumnitrat**. Ammonsalze können sehr vielen Bakterien als Stickstoffquelle dienen, auch Nitrate können verwertet werden, besonders von denitrifizierenden Arten. Gerlach und Vogel[1]) haben eine Reihe von Bakterien aus Ackerboden und aus Stallmist isoliert, welche bei Zufuhr von Salpeter- oder Ammoniak-N sich gut entwickelten und den Salpeter-N in unlöslichen Eiweiß-N überführten. Festlegung von Ammoniak-N und Salpeter-N als Eiweiß in Bakterien beobachteten auch Stutzer und Rothe[2]). Sowohl die Denitrifikation wie die Bildung von Eiweiß aus Salpeter sind an die Gegenwart hinreichender Mengen organischer Stoffe im Boden gebunden. Nach Behrens[3]) können diese beiden Vorgänge demnach nur bei Stallmist- und Gründüngung von Be-

---

1) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII.

2) Stutzer und Rothe, Fühlings landw. Ztg. 1904. Ref. in A. Kochs Jahresber. Bd. XV. 1904.

3) Behrens, in Lafars Handb. der techn. Mykol. Bd. III. p. 462.

deutung sein. Da in unseren Versuchen organische Substanzen dem Boden nicht zugesetzt waren, konnten wir also von vornherein eine sehr bedeutende Vermehrung denitrifizierender und eiweißbildender Bakterien nach Zusatz von Ammonsulfat oder Natriumnitrat zum Boden nicht erwarten. Wir haben pro Teller, d. h. zu etwa 500 g Boden, 0,25 bezw. 0,5 g Ammoniak-N (Tab. 21, 22) oder 0,5 g Nitrat-N (Tab. 23, 24) zugesetzt, d. h. so reichliche Stickstoffmengen, wie sie in der landwirtschaftlichen Praxis in der Düngung dem Boden nicht annähernd einverleibt werden. Die Einbringung von Ammoniak-N in einer Menge von 0,25 g pro Teller = 0,05 g pro 100 g Boden hat eine Veränderung in der Bakterienzahl nicht bewirkt; eine schwache Steigerung hat in einigen Fällen ein Zusatz von 0,5 g N pro Teller = 0,1 g pro 100 g Boden hervorgerufen. Natriumnitrat hat bei den Versuchen vom 21. Mai 1908 (Tab. 23) ebenfalls nur eine geringe Wirkung gehabt; bei dem Tellerversuch vom 30. Juni (Tab. 24) ist dagegen die Bakterienzahl auf das Doppelte erhöht worden.

Ueber die Frage, ob Kalium für die Ernährung der Bakterien unentbehrlich ist, sind wir noch nicht aufgeklärt. Nach Gerlach und Vogel[1]) wirken Kali und Natron in Nährlösungen auf das Wachstum und die Stickstoffbindung des Azotobacter günstig ein; nach Berthelot sind kalireiche Böden besonders günstig für die Stickstoffbindung. A. Koch beobachtete dagegen neuerdings eine Erniedrigung der N-Bindung im Boden durch Kaliumsulfat und besonders durch Kaliumchlorid. Bei unseren Versuchen setzten wir dem Boden pro 100 g 0,5 g K_2O in der Form von Kaliumsulfat zu (Tab. 25, 26) und beobachteten nach längerer Zeit eine schwache Erhöhung der Bakterienzahl.

Calcium scheint für viele Bakterien unnötig zu sein. Ob für die stickstoffbindenden Bakterien die Gegenwart von Calcium unentbehrlich ist, erscheint zweifelhaft. H. Fischer[2]) gibt an, daß Düngung des Ackerbodens mit Kalk die Vermehrung von Azotobacter begünstigt, und daß die Entwickelung dieses Organismus einen Minimalgehalt von 0,1 Proz. CaO im Boden verlangt. Eine Erhöhung der Tätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien durch Düngung mit Aetzkalk fand W. Krüger[3]). A. Koch[4]) zeigte andererseits, daß ein Zusatz von 0,1 Proz. CaO zu dem von ihm untersuchten Boden die Stickstoffbindung herabsetzt. Ehrenberg verbesserte durch Kalkdüngung einen infolge seiner saueren Reaktion „bakteriell abnormen“, wenig ertragsfähigen Boden so, daß nicht nur die Ernten sich erhöhten, sondern auch das Peptonzersetzungs-, das Nitrifikations-, das Denitrifikations- und Stickstoffbindungsvermögen bedeutend stieg. Wir verwendeten einen Zusatz von 0,5 g CaO pro Teller = 500 g Boden. In den Versuchen vom 25. Februar (Tab. 27) war am 5. März eine Steigerung der Bakterienzahl durch Kalkdüngung nachweisbar, am 9. März lag diese Erhöhung innerhalb der angenommenen Fehlergrenze; am 18. und 20. März war ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Kontrollboden und dem mit Kalk behandelten Boden nicht mehr vorhanden. In den am 21. Mai angesetzten Tellern (Tab. 28) war nach 7 Wochen eine deutliche Zu-

---

[1]) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 636.

[2]) Fischer, H., Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905; Journ. f. Landw. Bd. LIII.

[3]) Krüger, W., Diss. Königsberg 1908.

[4]) Koch, A., Litzendorff, Krull, Alves l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nahme der Keimzahl eingetreten. Jedenfalls geht aus den Versuchen hervor, daß Kalkzusatz zum Boden die Bakterienzahl erhöhen kann.

Nach den Mitteilungen von Molisch[1]) scheint Magnesium für viele Bakterien ein Nährstoff zu sein. Er fand, daß magnesiumfreie Nährlösungen steril bleiben können, selbst wenn sie mit einem Gemisch von Fäulnisbakterien beimpft werden. Auf den günstigen Einfluß, den Magnesiumsalze auf das Fäulnisvermögen der Bakterien im Gegensatz zu Calciumsalzen ausüben, hat auch S. Machida[2]) hingewiesen. Das veranlaßte uns, auch die Wirkung von Magnesium auf die Zahl der Bakterien zu untersuchen. Wie aus den Tabellen 29 und 30 hervorgeht, bewirkte ein Zusatz von 0,5 g MgO in der Form von Magnesiumsulfat zu 100 g Boden eine nicht unbedeutende Steigerung der Bakterienzahl. — Auf die Tätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien im Boden wirken Magnesiumsalze nach A. Koch nicht förderlich ein.

Die Untersuchungen über den Einfluß der Phosphorsäure erstrecken sich namentlich auf stickstoffbindende Bakterien. Gerlach und Vogel fanden, daß Phosphorsäure für Azotobacter unentbehrlich ist. Eine günstige Wirkung der Phosphorsäure bemerkte auch Christensen[3]). A. Koch beobachtete eine bedeutende Erhöhung der Stickstoffbindung nach Zusatz von Superphosphat zum Boden. Aehnliche Beobachtungen machte Löhnis. In unseren Versuchen (Tabelle 31, 32) blieb ein Zusatz von 0,1 g Superphosphat zu 100 g Boden ohne Einfluß auf die Zahl der Bakterien.

Die Beeinflussung der Bakterienzahl durch mineralische Düngemittel ist demnach folgender Art:

Ammoniumsulfat, Natriumnitrat, Kaliumsulfat und wahrscheinlich auch Aetzkalk erhöhen die Bakterienzahl im Boden ganz schwach. Magnesiumsulfat hat eine nicht ganz unbedeutende Steigerung zur Folge. Ein Zusatz von Superphosphat ist ohne Einfluß.

§ 11. Ueber die Sporenbildung der Bakterien im Ackerboden.

Bei den Untersuchungen über die Abhängigkeit der Verbreitung der Bakterien im Boden von den verschiedenen äußeren Einflüssen drängten sich uns weitere Fragen nach dem biologischen Verhalten dieser Kleinlebewesen im Ackerboden auf. In dieser Richtung führten wir daher parallel zu einigen Gesamtbakterienzählungen ein paar Versuche über das Vorkommen von Bakteriensporen im Ackerboden aus. Das bot deshalb besonderes Interesse, weil der Eintritt der Sporenbildung bei Bakterien in sehr vielen Fällen der Ausdruck dafür ist, daß sich die Lebensbedingungen für diese Kleinlebewesen ungünstiger gestaltet haben.

Bei Formen, die keine Sporen bilden können, wird eine ungünstigere Gestaltung der Lebensbedingungen mit dem Absterben vieler Bakterien zusammenfallen; bei solchen, die diese Fähigkeit besitzen, würde es zu Sporenbildung kommen. Man würde also annehmen können, daß mit einem stärkeren Fallen der Gesamtbakterienzahl im Boden Sporenbildung Hand in Hand geht (vgl. aber p. 610).

---

[1]) Molisch, zitiert nach Lafars Handb. d. techn. Mykol. Bd. I. p. 393.

[2]) Machida, S., Bulletin of the Imp. Centr. Agricult. Exper. Station of Japan. Vol. I. 1905. No. 1.

[3]) Christensen, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVII. p. 109.

Der Eintritt der Sporenbildung bei Bakterien kann durch eine Reihe ganz verschiedener äußerer Einflüsse hervorgerufen werden. Der Bakteriologe glaubt in erster Linie die Sporenbildung zu beobachten bei eintretendem Mangel an Nährstoffen und bei einem Ueberhandnehmen der Stoffwechselprodukte. Auf jene Möglichkeit hat zuerst H. Buchner[1]), auf diese Migula[2]) hingewiesen. Weiterhin spielt unter den Einflüssen, welche Sporenbildung auslösen können, der Sauerstoffzutritt eine Rolle. Für aërobiotische Formen ist nach Schreiber[3]) Sauerstoff zur Sporenbildung unbedingt notwendig, und zwar liegt das Minimum des Sauerstoffdruckes für die Sporenbildung höher als für das Wachstum. Auf die Bedeutung der Gegenwart mancher chemischer Substanzen für die Sporenbildung haben Behring[4]) und Schreiber[5]) aufmerksam gemacht; die Sporenbildung begünstigende Stoffe sind z. B. Calciumchlorid, Natriumchlorid, Magnesiumsulfat und Natriumkarbonat. Steigende Konzentrationen dieser Stoffe sollen jedoch eher die Sporenbildung als das vegetative Wachstum verhindern.

Nicht nur der Eintritt der Sporenbildung, auch die Menge der schließlich gebildeten Sporen ist Veränderungen unterworfen. Daß individuelle Eigentümlichkeiten hierbei von Bedeutung sein können, hat Migula[6]) nachgewiesen. Besonders kommen diese zur Geltung bei der Kultur sporenbildender Bakterien in künstlichen Nährlösungen. In solchen können einige Arten die Fähigkeit der Sporenbildung entweder dauernd oder doch wenigstens unter den betreffenden Kulturbedingungen verlieren (asporogener Milzbrandbacillus!). — Die Menge der gebildeten Sporen hängt auch von dem Nährboden ab. Nach Osborne[7]) werden in schlechteren Nährböden weniger Sporen gebildet als in besseren, und nach Stephanidis[8]) ist auch die Menge der Sporen bezogen auf die Anzahl der vegetativen Formen auf den besseren Nährböden größer.

Bei unseren Versuchen handelte es sich, wie gesagt, um die Menge der Sporen im Ackerboden. Eine schwierige Frage ist es, wie man diese am besten bestimmt. Weil[9]) benutzte zu seinen Versuchen über den Beginn der Sporenbildung bei verschiedenen Temperaturen die größere Widerstandsfähigkeit der Milzbrandbacillussporen gegenüber den vegetativen Stäbchen; er erhitzte, wie schon vorher Roux[10]), die Milzbrandbakterien so lange, bis alle vegetativen Formen abgetötet waren, und nur noch die Sporen im lebensfähigen Zustande zurückblieben. Wir verwendeten ebenfalls die Methode des Erhitzens. Wir gingen in der Weise vor, daß wir den Boden eine halbe Stunde lang im Dampftopf bei 100° C erhitzten und dann die Menge der lebendig gebliebenen Sporen mit Hilfe der Heyden-Agarplattenmethode ermittelten.

Dies Verfahren ist natürlich nur ein sehr rohes, da außer den vegetativen Formen dabei auch sehr viele Sporen abgetötet werden und nicht

---

1) Buchner, H., Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. VIII. 1890.
2) Migula, in Lafars Handb. d. techn. Mykol. Bd. I. p. 108 ff.
3) Schreiber, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XX. 1896. p. 353 ff.
4) Behring, Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1899.
5) Schreiber l. c.
6) Migula, in Lafars Handb. der techn. Mykol. Bd. I. p. 109 ff.
7) Osborne, Arch. f. Hyg. Bd. XI. 1890.
8) Stephanidis, Arch. f. Hyg. Bd. XXXV. 1899.
9) Weil, Arch. f. Hyg. Bd. XXXV. 1899. p. 355.
10) Roux, zitiert bei Weil.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zur Zählung kommen. Es sei nur erwähnt, daß, wie Dannappel[1]) nachgewiesen hat, bei manchen Arten die Resistenz der Sporen nicht viel größer als die der vegetativen Formen ist. Andere Arten dagegen besitzen bekanntlich Sporen von sehr bedeutender Hitzebeständigkeit, einige überdauern sogar mehrstündiges Verweilen in Flüssigkeiten oder in Dampf von 100° C. — Daß auch die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Sporen einer und derselben Bakterienspecies, ja eines und desselben Stammes derselben, selbst wenn sie möglichst unter denselben Bedingungen, z. B. in derselben Nährlösung, entstanden sind, stark voneinander abweichen kann, zeigt der folgende Versuch, den wir mit einer Reinkultur von Bacillus mesentericus niger anstellten.

Wir gingen dabei von einer Heyden-Agarkultur dieses Bacillus aus, säten den Bacillus daraus in verschiedener Stärke in einige Röhrchen mit flüssigem Heyden-Agar und brachten den Agar in Petri-Schalen. Nach Verlauf ungefähr einer Woche beimpften wir mit Bakterien einer inzwischen herangewachsenen, isoliert im Agar einer Platte liegenden Kolonie von Bacillus mesentericus niger von neuem Heyden-Agar. Wieder wurden mehrere Platten gegossen, und es diente alsdann die Nachkommenschaft eines einzigen Bacillus, der in isolierter Lage auf einer Petri-Schale eine Kolonie gebildet hatte, als Ausgangsmaterial zu dem weiteren Versuche. Diesen begannen wir damit, daß wir eine Bouillonkultur von dem so gewonnenen Stamme des Bacillus herstellten. Nach 10 Tagen untersuchten wir diese zunächst mikroskopisch. Es ergab sich dabei, daß sie größtenteils freie Sporen enthielt, und daß Stäbchen nur in geringer Menge vorhanden waren. Darauf brachten wir die ganze 10 Tage alte Kultur, insgesamt 9 ccm Flüssigkeit, in einen Kolben mit 400 ccm Leitungswasser. Zu den 409 ccm Flüssigkeit, welche sich dann in diesem Kolben befanden, kamen noch weitere 25 ccm Wasser, mit welchem aus dem Kulturröhrchen die darin zurückgebliebenen Sporen durch mehrfaches Nachspülen möglichst entfernt worden waren. Der Kolben, der nun die Kultur umschloß, enthielt somit 434 ccm Flüssigkeit. Nach kräftigem Durchschütteln beimpften wir mit je 1 ccm derselben, das mithin $^9/_{434}$ ccm der ursprünglichen Bouillon entsprach, 9 Röhrchen mit flüssigem Heyden-Agar und stellten diese Röhrchen gleichzeitig mit einem unbeimpften Heyden-Agarröhrchen in einen kupfernen Becher, der siedendes Wasser enthielt. Den Moment, in welchem der Agar die Temperatur von 99° C erreicht hatte, bestimmten wir mit Hilfe des in dem unbeimpften Heyden-Agarröhrchen steckenden Thermometers, nahmen, von diesem Augenblicke an gerechnet, nach 5, 10 bezw. 15 Minuten je drei der heißen Röhrchen aus dem kupfernen Becher heraus, gossen ihren Inhalt nach recht kräftigem Umschütteln sofort in sterile Petri-Schalen und hoben diese nach dem Erstarren des Agars bei etwa 28—30° C im Brutzimmer auf. Nach 10-tägiger Aufbewahrung im Brutzimmer wurden auf den einzelnen Platten folgende Kolonieenzahlen ermittelt; in $^9/_{434}$ ccm der Bouillonkultur waren enthalten:

5 Minuten bei 100° C erhitzt:	29 Kolonieen	Mittel 41,3 Kolonieen
5 „ „ 100° C „	51 „	
5 „ „ 100° C „	44 „	

---

[1]) Dannappel, Inwieweit ist die höhere Widerstandsfähigkeit der Bakteriensporen usw. Diss. Königsberg 1898.

10	Minuten bei	100° C	erhitzt:	7	Kolonieen	Mittel 7,3 Kolonieen
10	„ „	100° C	„	6	„	
10	„ „	100° C	„	9	„	
15	„ „	100° C	„	1	„	$^1/_3$ „
15	„ „	100° C	„	—	„	
15	„ „	109° C	„	—	„	

Es waren mithin in 1 ccm Bouillon vorhanden:

1993 Bakt. Sporen, die 5 Min. langen
353 „ „ „ 10 „ „
16 „ „ „ 15 „ „

Aufenthalt in Heyden-Agar bei 100° C überdauerten. Die verschiedenen Sporen von Bacillus mesentericus niger sind also sehr ungleich resistent gegen Hitze. Bemerkenswert ist weiterhin, daß bei dem Versuche, alle in der Bouillonkultur vorhandenen Bakterien mit Hilfe der Heyden-Agarplattenmethode zu zählen, bei einer Aussaatstärke von $^1/_{10000}$ ccm Bouillon pro Platte so viele kleine Kolonieen heranwuchsen, daß diese überhaupt nicht genau zahlenmäßig zu ermitteln waren. Es geht daraus hervor, daß die Sporen, die 5 Minuten langes Erhitzen ertrugen, der Zahl nach 1993 in 1 ccm Bouillon, nur einen geringen Teil aller in der Bouillonkultur vorhandenen Bakterienzellen darstellten. Da in der Bouillon die Sporen bei weitem überwogen, wie das mikroskopische Präparat zeigte, so hat es den Anschein, als wenn schon bei 5 Minuten langem Erhitzen der größte Teil der Sporen abgestorben ist.

Auf die wechselnde Resistenz der Bakteriensporen einer Art gegen Hitze hat schon 1889 v. Esmarch¹) hingewiesen. Auch Christen²) und v. Wahl³) fanden, daß Sporen, namentlich wenn sie auf verschiedenen Medien eingetrocknet sind, von sehr ungleicher Resistenz gegen Hitze sein können. v. Esmarch glaubte, daß sich die Sporen einer und derselben Herkunft untereinander gleich verhalten. A. Meyer⁴) sagt, daß die Zeit, in welcher die Sporen einer Species bei einer bestimmten supramaximalen Temperatur abgetötet werden, für die Species innerhalb der Grenzen der individuellen Variation konstant ist. Bei allen diesen Untersuchungen hat man die Widerstandsfähigkeit der Sporen in der Weise ermittelt, daß man die Sporen verschieden lange oder bei verschiedenen Temperaturhöhen erhitzte, sie darauf in sterile Nährlösungen überimpfte und dann danach, ob in den Nährlösungen noch Wachstum eintrat oder nicht, bestimmte, bei welcher Temperatur noch Sporen lebendig geblieben waren. Unsere Versuche beruhen auf einer Zählung der nach dem Erhitzen lebendig gebliebenen Sporen; sie zeigen, daß die Zeit, die zur Abtötung der Sporen notwendig ist, auch bei Bakterien, die weniger resistente Sporen als die von A. Meyer untersuchten Formen besitzen, individuell ziemlich stark schwankt.

Der bei weitem größte Teil der Sporen von Bacillus mesentericus niger wird schon bei kurzer Dauer der Erhitzung abgetötet; nur eine sehr geringe Menge erträgt auch eine länger als 10 bis 15 Minuten dauernde Erhitzung.

---

1) v. Esmarch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889.

2) Christen, Mitteil. a. d. Kliniken u. mediz. Instit. d. Schweiz. 3. Reihe. 1895. Heft 2.

3) v. Wahl, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVI. 1906.

4) Meyer, A. Ber. d. D. botan. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906. Heft 6.

Wenn wir zwecks Ermittelung der Sporenzahl im Ackerboden diesen ½ Stunde lang auf 100° C erhitzten, so schließt das Verfahren demnach ganz bedeutende Mängel in sich. Wir wählten es, weil wir bei einer kürzeren Erhitzungsdauer oft eine sehr schlechte Uebereinstimmung der Kolonieenzahlen auf den Parallelplatten erhielten. Bei ein paar Reihen, bei welchen die Erhitzungsdauer nur 5 Minuten betrug, berechneten wir beispielsweise aus den einzelnen Plattenwerten einer Bodenprobe einen wahrscheinlichen Fehler des Mittelwertes von ± 13,3 bis ± 16,9 Proz. Eine solche Reihe ist die folgende:

Kolonieen:
297
311 } Mittel:
152 } 214 Kolonieen
94

Der wahrscheinliche Fehler des Mittelwertes, berechnet aus den einzelnen Plattenwerten, beträgt ± 36,3, d. h. ± 16,9 Proz., wenn wir den Mittelwert gleich 100 setzen. Bei ½-stündigem Erhitzen war der mittlere Fehler, wie wir noch sehen werden, geringer.

Schließlich ist zu beachten, daß schon bei 5 Minuten langer Erhitzung ein großer Teil der Sporen abstirbt, wie schon aus unseren Versuchen mit Bacillus mesentericus niger hervorgeht. Es ist allerdings nach v. Wahls Ergebnissen anzunehmen, daß die Bakteriensporen im Erdboden resistenter sind als in einer Reinkultur in Bouillon.

Nun zu den Einzelheiten des von uns benutzten Verfahrens! Ebenso wie bei den Gesamtbakterienzählungen mit Hilfe der Heyden-Agarplattenmethode wurde zunächst eine Bodenprobe von etwa 20 g in einen Kolben mit 400 ccm Leitungswasser geimpft. In solchen Fällen, wo größere Sporenmengen im Boden zu erwarten waren, wurde noch einmal weiter verdünnt. Von der Bodenaufschwemmung wurde dann ein bestimmtes Quantum, das meist 50 bezw. 10 mg des zu untersuchenden Bodens entsprach, direkt in ein Röhrchen mit Heyden-Agar geimpft, im Dampftopf ½ Stunde lang auf 100° C gehalten und dann sofort mit dem flüssigen Heyden-Agar in die Petri-Schale ausgegossen. Gewöhnlich wurden so 5—6 Röhrchen bezw. Schalen beimpft. Nach 10-tägiger Aufbewahrung im Brutzimmer wurden die Kolonieen gezählt.

Der Versuch, die Sporen sofort in der Bodenaufschwemmung zu erhitzen, lieferte schlecht übereinstimmende Zahlen.

Auch die Uebereinstimmung der mit dem von uns benutzten Sporenzählverfahren gewonnenen Zahlenwerte ließ in manchen Fällen sehr zu wünschen übrig. Den höchsten aus den einzelnen Plattenwerten einer Bodenprobe gewonnenen Fehler ergab die folgende Reihe mit sechs Parallelplatten:

Kolonieen:
80
35
35 } Mittel:
54 } 56 Kolonieen
46
87

(Aussaatstärke pro Röhrchen: 50 mg.) Daraus berechnet sich als

	mittlerer Fehler		wahrscheinlicher Fehler
bei 4 Parallelen	± 11,2	= ± 20 Proz.	± 13,3 Proz.
„ 5 „	± 10	= ± 17,8 „	± 11,9 „
„ 6 „	± 9,2	= ± 16,4 „	± 10,9 „

Da sich die Zahl der Parallelplatten bei unseren Zählungen auf mindestens vier belief, so rechnen wir mit einem wahrscheinlichen Fehler von ± 13,3 Proz. für eine Untersuchung.

Wie schon erwähnt, führten wir die Sporenzählungen parallel mit einigen Gesamtbakterienzählungen durch. Es sind jedoch die zahlenmäßigen Ergebnisse einer Reihe von Versuchen, die wir über die Wirkung verschiedener Faktoren auf die Sporenzahl im Boden anstellten, nicht angeführt worden. Dahin gehören die Tellerversuche im Laboratorium über die Wirkung der Temperatur und einiger mineralischer Substanzen (CaO, K_2SO_4, $[NH_4]_2SO_4$, Superphosphat). Die hier beobachteten Ausschläge waren im allgemeinen so gering, daß sie noch in die angenommene Fehlergrenze fallen. In sehr vielen Fällen widersprechen sich daher die so erlangten Resultate. Die Sporenzahl war bei diesen Versuchen im allgemeinen eine sehr geringe, ebenso wie bei den Versuchen vom 25. Februar 1908 (vgl. Tab. 38) über den Einfluß von Rohrzucker und bei den periodischen Untersuchungen der Parzellen 15 und 21 (Tab. 36 und 37).

Die größten beobachteten Ausschläge ergaben die im Laboratorium angestellten Tellerversuche über den

Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Sporenzahl

(Tab. 33, vom 10. Juli 1907; Tab. 34, vom 31. August 1907), dieselben Tellerversuche, die zur Feststellung des Einflusses der Bodenfeuchtigkeit auf die Gesamtbakterienzahl (vgl. § 6) dienten. Wie aus den Tabellen No. 33 vom 10. Juli 1907 (Lehmboden) und No. 34 vom 31. August 1907 ersichtlich ist, ist durch die in der Zeit vom 10. Juli bis zum 16. Juli resp. vom 31. August bis 11. September erfolgte Abnahme des Wassergehaltes von etwa 15. Proz. auf 6,5 Proz. bei beiden Versuchen die Sporenzahl kaum erhöht worden. Eine Beförderung der Sporenbildung durch allmähliches Eintrocknen, die nach Migula[1]) vorhanden zu sein scheint, läßt sich hier demnach nicht wahrnehmen. Die Versuchsreihe vom 31. August (Tab. 34) ergibt allerdings bei einem Feuchtigkeitsgrade von 30 Proz. der vollen Wasserkapazität eine höhere Sporenzahl als bei einem solchen von 50 Proz.

Dagegen steigt die Zahl der Bakteriensporen mit zunehmendem Wassergehalte im Lehmboden ebenso wie die Gesamtbakterienzahl, denn in den Versuchsreihen vom 10. Juli (Tab. 33) und vom 31. August (Tab. 34) sind die bei einem Feuchtigkeitsgrade von 80 Proz. bezw. 100 Proz. der vollen Wasserkapazität ermittelten Sporenzahlen etwa doppelt so groß als die bei dem Feuchtigkeitsgrade von 50 Proz. der vollen Wasserkapazität gewonnenen Werte, die Unterschiede liegen also weit außerhalb der angenommenen Fehlergrenze. Die Stoffwechselprodukte der Bakterien scheinen demnach einen größeren Einfluß auszuüben als eine ungünstige Gestaltung des Wassergehalts.

Ein anderes Bild geben weitere Tellerversuche vom 10. Juli 1907 (Tab. 35), bei denen es sich aber um ein Gemisch von $^2/_3$ Lehmboden und $^1/_3$ Sand handelte. Der zu diesem Gemische verwendete, sowie auch der bei der ersten Versuchsreihe vom 10. Juli 1907 (Tab. 33) benutzte Lehmboden waren zusammen derselben Parzelle des Versuchsfeldes entnommen und vor dem Ansetzen der Tellerversuche gut durchgemischt worden. Wie erinnerlich, fanden wir bei dem Tellerversuch mit dem Lehmbodensandgemisch (vgl. § 6 und Tab. 2) eine günstige

---

[1]) Migula in Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. I. p. 112.

Wirkung höheren Wassergehaltes auf die Entwickelung der Bakterien. Um so auffälliger ist es, namentlich im Hinblick auf die Versuche mit reinem Lehmboden, daß die Sporenzahl durch höheren Wassergehalt nicht beeinflußt worden ist. Wir stellen hier die gewonnenen Zahlen einander gegenüber:

Prozente der vollen Wasserkapazität	Sporenzahl, ausgedrückt in relativen Werten			
	$^2/_3$ Lehmboden, $^1/_3$ Sand		reiner Lehmboden	
	17. Juli	28. August	16. Juli	17. August
30	85	102	57	54
50	88	107	49	57
80	100	100	100	100

Prozente der vollen Wasserkapazität	Bakterienzahl, ausgedrückt in relativen Werten			
	$^2/_3$ Lehmboden, $^1/_3$ Sand		reiner Lehmboden	
	17. Juli	28. August	16. Juli	17. August
30	25	72	16	49
50	21	86	20	68
80	100	100	100	100

Wir lassen es dahingestellt, ob der Luftzutritt oder andere Einflüsse hier in Betracht kommen.

Entsprechend dem Resultate der Laboratoriumsversuche über den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Zahl der Bakterien und Sporen im Lehmboden beobachteten wir auch bei den periodischen Untersuchungen der Parzellen 15 (Tab. 36) und 21 (Tab. 37) im allgemeinen bei steigendem Wassergehalte des Bodens eine Zunahme der Sporenzahl. In dieser Hinsicht sei namentlich auf die Steigerung der Sporen- und Bakterienzahl in der Zeit vom 13. August bis zum 2. bezw. 15. September 1907 hingewiesen. Jedoch gibt es auch Ausnahmen.

Ueber den Einfluß der Temperatur

läßt sich auf Grund dieser periodischen Untersuchungen nur das aussagen, daß, wie die Untersuchung der Parzelle 15 (Tab. 36) am 9. Januar 1908 anzudeuten scheint, bis Januar keine erhöhte Sporenzahl als Vorbereitung zur Winterruhe gebildet worden ist. Daß ein plötzlich eintretender Frost nicht zur Sporenbildung nötigt, ist vielleicht verständlich, weil die Bakterien nicht die Zeit haben, sich durch Sporenbildung gegen Frost zu schützen. Die Feststellungen über Sporenbildung stehen im Einklange mit Lagervalls[1]) Ergebnissen; sie decken sich mit unseren Feststellungen über die Gesamtbakterienzahl, insofern als beide, Sporen und Bakterien, durch Frost nicht geschädigt zu werden scheinen.

Ein sehr unerwartetes Resultat lieferten die Versuche über den Einfluß des Zusatzes von Rohrzucker zum Boden auf die Sporenzahl (Tab. 38). Sogar noch 3—4 Wochen nach dem Zusatze des Rohrzuckers zum Boden, also zu einer Zeit, wo längst sämtlicher Zucker im Boden verschwunden, die Gesamtbakterienzahl aber noch eine sehr hohe war, beobachteten wir eher eine Abnahme als eine Steigerung der Sporenmenge. Dabei war nicht nur die Menge der $^1/_2$-stündigen Aufenthalt in Heyden-Agar von 100° C ertragenden Sporen ziemlich unverändert geblieben; auch Sporen, welche nur 5 Minuten langes Erhitzen überdauerten, waren in dem mit Zucker behandelten Boden nicht in größerer Zahl als in dem Kontrollboden enthalten, während die Gesamtbakterienzahl etwa 10mal so groß war.

---

[1]) Lagervall, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. III. p. 75.

Das von uns benutzte Verfahren der Zählung der Bakteriensporen ist schon als ein sehr ungenaues gekennzeichnet worden. Vielleicht gelingt es später, eine geeignetere Methode für die Sporenzählung ausfindig zu machen. Unsere Ausführungen können hoffentlich dabei ein wenig mit zur Orientierung dienen.

III. Teil.

Vergleich der Bakterienzählungen und der Umsetzungsversuche nach Remys Methode.

§ 12. Einiges über das Wesen und den Wert der Remyschen Methode.

Bei den Untersuchungen des dritten Hauptteils haben wir die Resultate von Zählversuchen mit einigen nach der Remyschen Methode gewonnenen Ergebnissen zu vergleichen. Den darauf bezüglichen Erörterungen schicken wir noch ein paar Worte über das Wesen und den Wert der Remyschen Methode voraus, da diese hinsichtlich ihrer Bedeutung recht verschieden beurteilt wird. Das Verfahren beruht darauf, daß die in gewissen Spezialnährlösungen durch eingeimpfte größere Bodenmengen hervorgerufenen, von Bakterien bewirkten Stickstoffumsetzungen nach einer gewissen Zeit quantitativ bestimmt werden. Wie schon erwähnt, soll der Zweck dieses Verfahrens nach Remy der sein, für die „Qualität“ und auch die „Quantität“ der zu einer bestimmten Mikroorganismengruppe „gehörigen Arten und Individuen“ einen Anhalt zu geben, oder, wie man sich auch ausgedrückt hat, die „Wirksamkeit“ der betreffenden Bakterien im Ackerboden zu messen, und so vielleicht Anhaltspunkte dafür zu geben, in welchem Fruchtbarkeitszustande sich dieser befindet.

Um die Zuverlässigkeit der Remyschen Methode zu prüfen, hat man in einem Teile der Arbeiten den Weg beschritten, daß man gleichzeitig festgestellt hat, wie Stickstoff, der dem Ackerboden in verschiedener Konstitution als Dünger zugeführt wird, durch höhere Pflanzen ausgenutzt werden kann, und von welchem Umfange die bei der Benutzung der Remyschen Methode in den Lösungen bewirkten Stickstoffumsetzungen sind. Aus den grundlegenden Untersuchungen Remys[1]) schien hervorzugehen, daß die Menge des in Pepton-, Omelianski- und Giltay-Lösung umgesetzten Stickstoffs in deutlicher Beziehung zu der Ausnutzung der verschiedenen Stickstoffdüngemittel durch höhere Pflanzen steht, oder daß, wie Remy sich ausdrückt, „die Größe der faulenden, salpeterbildenden und salpeterzerstörenden Kraft des Bodens auf das Wirkungsverhältnis der verschiedenen Stickstoffdünger einen deutlich wahrnehmbaren Einfluß ausübt“. Ehrenberg[2]) gewann zum Teil ähnliche Resultate; er fand, daß zwei von Remy untersuchte und wegen ihres eigenartigen Verhaltens als bakteriell abnorm bezeichnete Böden — in den Umsetzungsversuchen nach Remy waren in beiden Fällen sowohl das Peptonzersetzungsvermögen, die Denitrifikations-, die Nitrifikations- wie auch die Stickstoffbindungskraft außerordentlich schwach, und auch das Pflanzenwachstum war nur ein kärgliches — dieses eigenartige Verhalten nur wegen ihres Kalkmangels und ihrer saueren Reaktion zeigten. Auch Untersuchungen von Löhnis[3]) und Löhnis und Pillai[4]) deuten teilweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Düngungszustande des Bodens und seinem bakteriellen Verhalten hin. Maassen und Behn[1]) konnten dagegen die vielfach vermuteten Beziehungen zwischen dem Fruchtbarkeitszustande des Bodens und dem Verhalten der Bodenbakterien in Peptonzersetzungsversuchen nicht finden. Sie teilen ferner mit, daß sie bei derartigen Versuchen über Nitrifikation, Denitrifikation und Stickstoffbindung deutliche Differenzen in der Bakterienflora sahen, daß sie aber bei bakterienarmen Böden von geringer Ertragsfähigkeit eine schleunigere und regelmäßigere Entwickelung der betreffenden Bakterien erhielten als bei bakterienreichen Böden, die eine hohe Ertragsfähigkeit besaßen. Die genannten Autoren schließen hieraus: „Das Aufkommen der spezifischen Bakterien in den Nährlösungen hängt demnach von Zufälligkeiten ab, von Verhältnissen, die sich unserem Einfluß entziehen.“ — Daß die Resultate der Umsetzungsversuche nach Remy selbst bei einem und demselben Boden nach gleicher Behandlung und Düngung manchmal Abweichungen zeigen und nicht übereinstimmen mit den erzielten Ernteerträgen, daß Umsetzungsversuche also auch hier nicht immer ganz sichere Resultate geben, zeigen Untersuchungen von Löhnis und Pillai über die Stickstoffbindung in Lösungen.

---

[1]) Remy, l. c. p. 657.

[2]) Ehrenberg, P., Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904.

[3]) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XV. 1906.

[4]) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1908.

Von Bedeutung für die Beurteilung von Peptonzersetzungsversuchen und ähnlichen Versuchen mit eiweißartigen Stoffen sind die Mitteilungen von Löhnis und Parr[2]). Diese beiden Autoren haben die Frage bearbeitet, ob die Ammoniakzahlen, welche durch quantitative Messung der durch Boden in Peptonlösungen bewirkten Umsetzungen ermittelt werden, einen allgemeinen Maßstab für die „Fäulniskraft“ abgeben können. Wie allerdings vor kurzem Vogel und Zeller[3]) nachgewiesen haben, ist Pepton zur Ermittelung der Fäulniskraft wenig geeignet, vor allem wegen seiner zu leichten Zersetzlichkeit; die Hornmehlzersetzung scheint nach den Untersuchungen dieser Autoren brauchbarer zu sein. Immerhin ist es von großem Interesse, daß Löhnis und Parr zeigten, daß die gleichen Einflüsse, die auf einen Boden einwirken, wie die Jahreszeit, die Temperatur und die Feuchtigkeit, oft ganz verschiedene Ammoniakzahlen ergeben, je nachdem, was für Substanzen zu den Versuchen benutzt werden, ob das verschiedene Peptonsorten sind, oder ob dazu Knochenmehl, Hornmehl oder Blutmehl dienen. Die mit Hilfe der Remyschen Methode ermittelten Ammoniakzahlen bringen deshalb nicht allgemein die „Wirksamkeit“ der ammoniakbildenden Bakterien zum Ausdruck.

Wir sehen aus diesen Ausführungen, daß eine endgültige Bewertung der Remyschen Methode noch nicht möglich ist. Wünschenswert sind zunächst vor allem weitere Versuche darüber, ob in dem Resultate des Lösungsversuches die Leistungen der Bakterien im Boden sich äußern.

Wir haben schon einleitend betont, daß es von vornherein wahrscheinlich sein muß, daß der Umsetzungsversuch nach Remy vorwiegend nur die Leistungsfähigkeit der vorhandenen Bakterienarten und -rassen, nicht auch die Zahl der Bakterien im Boden zum Ausdruck bringen kann, weil sie den letzteren Faktor wenigstens bei schnell sich vermehrenden Bakterien nicht fassen kann; denn wird eine größere Menge von Bak-

---

1) Maassen und Behn, l. c.

2) Löhnis und Parr, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 520.

3) Vogel und Zeller, Mitteil. d. Kaiser-Wilhelms-Instit. f. Landw. in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 2.

terien eingeimpft, so vermehren sie sich schwächer, als wenn weniger Bakterien in die Lösungen gebracht werden. Beide Methoden, die Zählmethode und die Remysche Methode, würden sich daher ergänzen, wenn die Höhe der Leistungen der Bakterien im Boden zum Ausdruck gebracht werden soll.

Von diesem Gesichtspunkte aus wollen wir im folgenden Paragraphen vergleichen, ob die Ausschläge der Resultate des Zählversuches und des Umsetzungsversuches nach Remys Methode bei gleicher Beeinflussung des Bodens im gleichen Sinne liegen.

§ 13. Der Einfluß des Kohlehydrat- oder Stickstoffzusatzes zum Boden auf das Resultat der Zählung der stickstoffbindenden, nitrifizierenden und peptonzersetzenden Bakterien und auf das Ergebnis der entsprechenden Umsetzungsversuche nach Remy.

Wie schon die Ueberschrift des Paragraphen besagt, prüfen wir bei den Versuchen, bei denen es sich um den Vergleich der Resultate der Zählungen und der Umsetzungsversuche handelt, den Einfluß des Kohlehydrat- und Stickstoffzusatzes zum Boden.

Wir untersuchten zunächst das Verhalten der

stickstoffbindenden Bakterien.

Wir wählten in diesen Versuchen von den Kohlehydraten den Rohrzucker, denn Zucker begünstigte in den Versuchen von A. Koch[1]) die Stickstoffbindung am meisten.

Den Stickstoff setzten wir dem Boden in der Form von Ammoniumsulfat zu. Da beträchtliche Mengen löslicher Stickstoffverbindungen die Stickstoffbindung herabsetzen, so war anzunehmen, daß dieser Zusatz schädlich wirken würde.

So wächst nach Gerlach und Vogel[2]) Azotobacter überhaupt nicht, wenn Nitrat, das in unserem Boden wohl reichlich vorhanden ist, in einigermaßen höherer Konzentration gegeben wird. Clostridium Pasteurianum wie Azotobacter können aber außer freiem Stickstoff auch Ammonsalze verbrauchen, und nach Beijerinck[3]) begünstigen Stickstoffverbindungen, und besonders Nitrate, diese selbst in der Konzentration von 1 pro Mille., das Wachstum von Azotobacter bedeutend.

Wir setzten dem Boden den Rohrzucker in einer Menge von 2 g pro 100 g Boden zu; diese Konzentration bewirkte bei den Versuchen von A. Koch die beste Ausnutzung des Zuckers. An Ammoniakstickstoff erhielten 100 g Boden 0,1 g.

Der zu diesen Versuchen benutzte Boden befand sich wieder zu je 500 g in Tellern, die nach entsprechender Behandlung bei einer Temperatur von 20—22 ° C im Brutzimmer aufgehoben wurden. Der Boden in den Tellern wurde durch tägliches Begießen mit destilliertem Wasser auf einem Wassergehalte von 17,35 Proz. gehalten. Etwa vier Wochen nach dem Ansetzen der Tellerversuche wurde zunächst die Menge der stickstoffbindenden Bakterien nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode bestimmt. Ungefähr gleichzeitig entnahmen wir Bodenproben für die Lösungsversuche nach Remys Methode. Da A. Koch[4])

---

1) Koch, A., Litzendorff, Krull, Alves, Journ. f. Landw. 1907. p. 368.
2) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901.
3) Beijerinck, zit. nach Lafar, Techn. Mykol. Bd. III. p. 17.
4) A. Koch, Krull, Litzendorff, Alves, l. c.

schon feststellte, daß Azotobacter an der Stickstoffzunahme im Boden nach Zuckerzusatz auf jeden Fall wesentlich beteiligt ist, so beschränkten wir uns bei den Zählversuchen nach der Verdünnungsmethode (Tab. 39) auf die Bestimmung der Menge der in den verschiedenen Böden vorhandenen Azotobacter-Zellen, auch aus dem Grunde, weil diese Form mikroskopisch leicht zu identifizieren ist. Als Nährlösung benutzten wir eine 1-proz. Mannitlösung nach Beijerinck, die in Probierröhrchen portioniert wurde.

Ebenso wie in den Versuchen von A. Koch, so zeigte sich auch hier, daß der mit Rohrzucker versetzte Boden den Kontrollboden im Reichtum an Azotobacter-Zellen gewaltig überragte. Diese Ueberlegenheit des mit 2 Proz. Zucker behandelten Bodens trat noch vier Wochen noch dem Beginne der Tellerversuche hervor. A. Koch konnte Azotobacter in Böden, die mit 1 Proz. bezw. 5 Proz. Zucker versetzt waren, nach 14 Tagen noch in allen Röhrchen nachweisen, nach weiteren 14 Tagen waren in den mit 1 Proz. Zucker versetzten Böden die Azotobacter-Zellen abgestorben; in den mit 5 Proz. versetzten noch nicht.

Die Gabe von 0,1 Proz. Stickstoff in der Form von Ammoniumsulfat hat, wie die Tab. 39 zeigt, die Entwickelung von Azotobacter im Vergleich zum Kontrollboden kaum beeinflußt.

Zu den Lösungsversuchen nach Remys Methode verwendeten wir ebenfalls 1-proz. Mannitlösung. Je 100 ccm derselben wurden in 250 ccm fassende Kolben gebracht, und dann in 8 Kolben 10 g des ohne Zusatz gebliebenen Bodens, 10 g von dem Boden, der mit 2 Proz. Rohrzucker versetzt war, und 10 g des mit Ammoniumsulfat behandelten Bodens eingeimpft. Der Inhalt von je 4 Kolben (nebst Boden) wurde beim Beginn der Versuche, am 27. März 1908, der Inhalt der übrigen 4 Kolben am Schlusse der Versuche, am 27. April, nach Jodlbauer auf Gesamtstickstoff untersucht. Die Tab. 40, welche die Ergebnisse dieser Versuche bringt, läßt in allen Fällen eine Stickstoffzunahme erkennen. Diese war sehr hoch, wenn die Lösung mit Boden ohne Zusatz beimpft worden war; bei dem Boden mit 2 Proz. Rohrzucker war sie etwas geringer, und nur eine unbedeutende Stickstoffzunahme zeigte sich bei der Impfung mit Boden, dem 0,1 Proz. Stickstoff zugesetzt worden war. Der mikroskopische Befund am Schlusse der Versuche, der sich auf je einen Kolben einer Serie erstreckte, ergab im ersten und zweiten Falle eine starke Vegetation von Azotobacter, die bei allen Kolben der beiden Serien durch die gebildete braune Haut kenntlich war. Der mit 0,1 Proz. Stickstoff versetzte Boden hatte dagegen Azotobacter überhaupt nicht aufkommen lassen; wenigstens konnte dieser Organismus in dem einen untersuchten Kolben nicht nachgewiesen werden. Dagegen hatte sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit in allen 4 Kolben eine derbe, feste Pilzhaut gebildet, und neben Stäbchenbakterien wurde ein Fadenpilz mit zahlreichen Sporen im mikroskopischen Präparat beobachtet. Der Pilz hat wahrscheinlich in den Lösungen ziemlich schnell eine Haut gebildet und so den Azotobacter bald gehemmt. Das Fehlen stark stickstoffbindender Bakterien äußert sich in der nur schwachen Stickstoffzunahme. Es ist allerdings auch nicht vollkommen ausgeschlossen, daß tatsächlich eine stärkere Stickstoffassimilation stattgefunden hat, als sie durch die chemische Analyse angezeigt wird; denn es wäre immerhin denkbar, daß durch Denitrifikations- und andere

Reduktionsprozesse freier Stickstoff oder Ammoniak gebildet und in die Luft gejagt worden ist, oder daß Pilze eine Abspaltung von Ammoniak bewirkt haben, der sich zum Teil der Analyse entzogen hat.

Bemerkenswert ist, daß durch die Behandlung der Impferde mit Rohrzucker die Stickstoffbindung im Lösungsversuche nach Remys Methode nicht höher, sondern sogar etwas niedriger ausgefallen ist als im Kontrollboden. Die durch den Zuckerzusatz zum Boden bewirkte Zunahme der Zahl der stickstoffbindenden Bakterien wird also durch das Resultat des Umsetzungsversuches nicht zum Ausdruck gebracht. Remys Methode kann daher über die Leistungen der stickstoffbindenden Bakterien im Boden nichts aussagen. Sie könnte demnach höchstens einen Anhaltspunkt für die Leistungsfähigkeit dieser Organismen im Boden geben. Aber auch dagegen lassen sich Einwände machen. Ein solcher wäre der folgende: Da wir wissen, daß gerade sehr stark stickstoffbindende Bakterien wie Azotobacter in Lösungen außerordentlich starke Differenzen in der Stickstoffassimilation zeigen, demnach sehr starke individuelle Differenzen in der stickstoffbindenden Fähigkeit dieser Organismen vorhanden sind, so kommt wegen der bei der Remyschen Methode üblichen starken Impfmenge die individuelle Leistungsfähigkeit der Bakterien im Boden im Resultat des Lösungsversuchs nicht zum Ausdruck. In unserem Falle würden also die zwischen dem Zuckerboden und dem Kontrollboden vorhandenen Unterschiede verwischt worden sein. Von diesem Gesichtspunkte aus könnte man es für besser halten, die Impfmenge möglichst klein, d. h. ungefähr so groß zu wählen, daß noch gerade Vertreter aller im Boden vorkommenden stickstoffbindenden Bakterienarten und -rassen mit in die Mannitlösung gelangen. Ein solches Verfahren begegnet aber von vornherein manchen Bedenken; auf diese hat in einem anderen Zusammenhange zum Teil schon Löhnis[1]) hingewiesen.

Nach einem von Hiltner und Störmer gegen die Brauchbarkeit der Remyschen Methode erhobenen Einwande liegt bei der Uebertragung größerer Bodenmengen in die Nährlösungen die Gefahr vor, daß die Bakterienarten, die sich entwickeln sollen, durch andere Organismen überwuchert werden. Bei unseren Versuchen machte sich Ueberwucherung der stickstoffbindenden Bakterien bei den infolge des Stickstoffzusatzes sehr stickstoffreichen Böden bemerkbar; sie wurde hier durch Fadenpilze bewirkt. Daß in den Fällen, wo unser Boden ohne Zusatz geblieben war, oder wo er eine Gabe von 2 Proz. Rohrzucker erhalten hatte, nichtstickstoffbindende Organismen die Stickstoffbindung beeinflußt haben, dünkt uns nicht wahrscheinlich. Es ist zwar in dem mit Rohrzucker versetzten Boden die Zahl der auf Heyden-Agar wachsenden Bakterien 10mal so groß als in dem Kontrollboden. Sie beträgt in jenem 454 Millionen, in diesem nur 42 Millionen. In beiden Fällen ist aber, wie erwähnt, in der Mannitlösung eine starke Azotobacter-Haut gebildet worden.

Die Ergebnisse der Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien lassen sich dahin zusammenfassen, daß durch Behandlung des Bodens mit Rohrzucker die Zahl der stickstoffbindenden Bakterien und das Resultat des Umsetzungsversuchs nach Remys Methode nicht in gleicher Weise beeinflußt werden. Das ist bemerkenswert, da doch bei den Ver-

---

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 448.

suchen von A. Koch der Zählversuch und die Bestimmung der Stickstoffzunahme in dem mit Zucker behandelten Boden ein übereinstimmendes Resultat gaben; denn im Zählversuch trat eine Erhöhung der Azotobacter-Zahl, und im mit Zucker behandelten Boden eine Erhöhung der Stickstoffbindung hervor. In unseren Versuchen hat deshalb Remys Methode den Einfluß des Zuckerzusatzes auf die stickstoffbindenden Bakterien im Boden nicht zum Ausdruck gebracht. Er zeigt höchstens, daß die stickstoffbindende Kraft der Bakterien durch den Zuckerzusatz nicht wesentlich verändert wird; er kann aber nicht zeigen, daß die Zahl der stickstoffbindenden Bakterien nach Zuckerzusatz zum Boden eine höhere ist.

Stickstoffzusatz zum Boden beeinflußte die Menge der Azotobacter-Zellen nicht, setzte aber die Stickstoffbindung im Remyschen Umsetzungsversuch herab, weil die stickstoffbindenden Bakterien durch Fadenpilze überwuchert wurden.

Wir haben die gleichen Böden, die zu den Versuchen mit stickstoffbindenden Bakterien dienten, auch benutzt, um die

nitrifizierenden Bakterien

darin nach beiden Methoden zu untersuchen. Die Zähl- und Umsetzungsversuche begannen wir ebenfalls etwa 4 Wochen nach dem Ansetzen der Teller, am 26. März 1908. Als Nährlösung diente zu den nach der Verdünnungsmethode ausgeführten Zählungen Omelianski-Lösung (mit 1 ‰ $[NH_4]_2SO_4$), welche sich in Probierröhrchen befand. Das Vorhandensein wirksamer nitrifizierender Bakterien wurde durch Prüfung auf Stickstoffsäuren mit Diphenylamin-Schwefelsäure nach 10-tägiger Aufbewahrung der Röhrchen im Brutzimmer bei einer Temperatur von 20—22° C festgestellt. Aus der Tabelle 41 ist ersichtlich, daß der Zusatz von 0,1 Proz. Stickstoff in der Form von Ammoniumsulfat zum Boden einen Unterschied in der Zahl der infizierten Röhrchen nicht ergab. Dagegen hatte die Behandlung mit 2 Proz. Rohrzucker die Zahl der lebensfähigen Bakterien stark geschwächt, denn in keinem einzigen der mit diesem Boden beimpften Röhrchen konnten nach 10 Tagen Stickstoffsäuren nachgewiesen werden. Nach 4 Wochen langer Aufbewahrung im Brutzimmer, also nach weiteren 20 Tagen, zeigten jedoch sämtliche mit dem Rohrzucker-Boden beschickten Röhrchen ebenso wie alle anderen Diphenylaminreaktion. — Ein anderes Resultat gaben neuere Tellerversuche, die Ende Mai angesetzt wurden. Bei diesen waren nämlich schon nach 10 Tagen in sämtlichen Lösungen Stickstoffsäuren nachzuweisen, gleichgültig, ob der Boden mit 2 Proz. Rohrzucker behandelt worden war, oder ob er unbehandelt geblieben war. Dabei waren die angewendeten Impfmengen dieselben wie bei den früheren Versuchen; allerdings dienten zu diesen Versuchen nicht Probierröhrchen, sondern kleine Kolben von etwa 100 ccm Inhalt. — Daß die hier wie bei den ersten Versuchen nach 10 bezw. 30 Tagen in allen Kolben bezw. Röhrchen nachgewiesenen Stickstoffsäuren nicht aus der Luft stammen, sondern von den nitrifizierenden Bakterien gebildet worden sind, geht aus anderen, noch später ausgeführten Versuchen hervor. Bei diesen war die Omelianski-Lösung teils in Röhrchen, teils in Kolben portioniert. Je 10 Röhrchen und 5 Kolben wurden mit 50 mg und 0,1 mg eines Bodens beimpft. Die gleiche Anzahl Kolben und Röhrchen blieb unbeimpft. Alle Kolben und Röhrchen wurden dann etwa 3 Monate im Brutzimmer aufbewahrt und dann untersucht. Nur die mit 50 mg Boden beimpften Röhrchen und Kolben, außerdem 2 Röhrchen mit 0,1 mg Boden ergaben nach dieser Zeit Diphenylaminreaktion. Wir schließen daraus, daß bei den ersten Versuchen (vgl. Tabelle 41 vom 25. Februar 1908) durch den Zuckerzusatz zum Boden die Lebenskraft der nitrifizierenden Bakterien geschwächt worden ist, daß diese Organismen aber nach einer 30-tägigen Aufbewahrung der Röhrchen im Brutzimmer wieder hochgekommen sind.

Bei den nach Remys Methode ausgeführten Versuchen (Tab. 42) wurden 50 ccm Omelianski-Lösung in 250 ccm-Kolben portioniert. Je 7 Kolben wurden mit 5 g des unbehandelten, des mit Rohrzucker versetzten, bezw. des Bodens beimpft, der einen Zusatz von 0,1 Proz. Stickstoff in der Form von Ammoniumsulfat erhalten hatte. In je 3 von den 7 Kolben wurde beim Beginn der Untersuchungen, in den anderen 4 nach 31 Tagen der Nitratgehalt durch Reduktion in alkalischer Lösung mit Eisen und Zink bestimmt. Diese letzten 3mal 4 Kolben wurden während dieser Zeit bei 20—22° C im Brutzimmer aufbewahrt.

Analog dem Resultat des Zählversuchs wurden durch den mit 2 Proz. Rohrzucker behandelten Boden nur Spuren von Nitrat-N, im Durchschnitt 0,61 mg pro Kolben, gebildet. Eine etwas größere Menge entstand in den Kolben, die mit dem ohne Zusatz gebliebenen Boden beimpft worden waren; immerhin war auch hier die Nitratmenge noch sehr gering. Sowohl der Zählversuch wie der Versuch nach Remy haben also hier einen Ausschlag ergeben. Die Impfung mit dem mit 2 Proz. Rohrzucker versetzten Boden konnte die von Bazarewski[1]) und Coleman[2]) bei Zuckerzusatz zum Boden beobachtete Erhöhung der Nitrifikation jedenfalls deshalb nicht zur Folge haben, weil die von uns gegebene Rohrzuckermenge zu groß war, um derartig zu wirken; bei Bazarewskis Versuchen riefen schon Gaben von mehr als 1 Proz. Zucker eine Depression hervor. Wenn wir ebenfalls eine Schwächung der Nitrifikation fanden, so kann das auch nicht im Gegensatze zu den Befunden von A. Koch[3]) stehen, nach denen Behandlung des Bodens mit 2 Proz. Rohrzucker die Nitrifikation entsprechend der Zunahme des Gesamtstickstoffgehaltes im Boden erhöht, denn unsere Zähl- und sonstigen Lösungsversuche begannen schon 4 Wochen nach dem Ansetzen der Erdteller, während in den Versuchen von A. Koch die Bestimmung des Gesamt-N und des Nitrat-N im Boden frühestens 4 Monate nach dem Zuckerzusatz zum Boden erfolgte.

Die größere Tätigkeit der nitrifizierenden Bakterien in dem mit 0,1 Proz. Ammoniak-N versetzten Boden kommt im Resultate des Lösungsversuchs nach Remy deutlich zum Ausdruck; in dem Kolben ist nach dem Zusatze von Ammoniumsulfat zur Impferde ungefähr 3mal soviel Nitrat-N gebildet worden, als wenn diese unbehandelt geblieben war. Das Mehr an Ammoniak-N, das jeder der aus den mit Ammonsulfat versetzten Tellern geimpfte Kolben durch die Impfung gegenüber einem aus dem Kontrollteller geimpften Kolben erhalten hat, kann das Bild nicht anders gestalten: 50 ccm Omelianski-Lösung enthalten 10,6 mg N; den fraglichen Kolben sind außerdem durch die Impferde ungefähr 4,19 mg Ammoniak-N zugeführt worden, so daß jeder Kolben ungefähr 14,79 mg Ammoniak-N enthielt; in jedem Kontrollkolben waren nur 10,6 mg Ammoniak-N vorhanden. Gebildet war an Nitrat-N im Durchschnitt in einem Kolben, der mit Boden aus dem mit Ammonsulfat versetzten Teller geimpft worden war, 5,87 mg Stickstoff; in einem mit Kontrollboden geimpften Kolben 1,72 mg Stickstoff. In dem einen Falle waren also 39,7 Proz., in dem anderen nur 16,2 Proz. des in einem Kolben vorhandenen Ammoniak-N in Nitrat-N übergeführt worden. Das zeigt deutlich, daß der aus dem Ammonsulfatteller geimpfte Kolben stärker nitrifiziert hat als der aus dem Kontrollteller geimpfte, und daß er sein Mehr an Nitraten nicht der durch die Impfung zugeführten Ammoniakmenge verdankt.

---

[1]) v. Bazarewski, Diss. Göttingen 1906.
[2]) Coleman, Diss. Göttingen 1908.
[3]) Koch, A., Litzendorff, Krull, Alves, Journ. f. Landw. 1907.

Die durch die Zufuhr von Ammoniumsulfat zur Impferde im Umsetzungsversuch nach Remy bewirkte bedeutende Beförderung der Nitrifikation erklären wir auf folgende Weise: Wie schon bemerkt, ergab bei dem Zählversuch nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode der Zusatz von 0,1 Proz. N in der Form von Ammoniumsulfat zum Boden im Vergleich zum Kontrollboden einen Unterschied nicht, weder nach 10 Tagen, noch nach 4 Wochen, wo schon in sämtlichen beimpften Röhrchen Diphenylamin-Reaktion nachweisbar war. Daß die Verdünnungsmethode kein Resultat ergeben hat, liegt wohl hauptsächlich daran, daß wir die Röhrchen nicht zur richtigen Zeit untersucht haben. Wahrscheinlich wäre ein Unterschied in der Zeit zwischen 10 Tagen und 4 Wochen zu beobachten gewesen; denn nach anderen Erfahrungen ist anzunehmen, daß die Zufuhr von Energiematerial auch hier eine Vermehrung der nitrifizierenden Bakterien hervorgerufen hat. Bei der ungemein langsamen Vermehrung, durch welche Nitrit- und Nitratbildner nach Winogradsky[1]) im Gegensatz zu den saprophytisch lebenden Bakterien ausgezeichnet sind, und auf welche der genannte russische Forscher wiederholt aufmerksam machte, bleibt nun bei dem Remyschen Umsetzungsversuch die in der mit Ammonsulfat versetzten Impferde den Kolben zugeführte größere Menge an nitrifizierenden Bakterien sehr lange der Menge dieser Bakterien in den Kontrollkolben überlegen. Dementsprechend haben auch die mit der mit Ammonsulfat versetzten Impferde beschickten Kolben in bezug auf die Menge der gebildeten Stickstoffsäuren gegenüber den Kontrollkolben einen bedeutenden Vorsprung. Dieser kommt im Resultate des Lösungsversuches nach Remy zum Ausdruck.

Wir sind somit bei unseren Versuchen mit nitrifizierenden Bakterien zu dem folgenden Ergebnisse gelangt: Das Hiltner-Störmersche Zählverfahren bringt ebenso wie die Remysche Methode die durch den Zusatz von bedeutenden Zuckermengen zum Boden geschwächte Lebenskraft dieser Organismen deutlich zum Ausdruck. Infolge der ungemein langsamen Vermehrung, durch welche die nitrifizierenden Bakterien ausgezeichnet sind, zeigt der Umsetzungsversuch nach Remy auch die durch eine Düngung mit Ammonsulfat bewirkte Steigerung der Zahl dieser Bakterien an. Wahrscheinlich wegen eines Beobachtungsfehlers konnten wir die Steigerung der Zahl der nitrifizierenden Bakterien im mit Ammonsulfat behandelten Boden mit der Hiltner-Störmerschen Methode nicht nachweisen.

Schließlich haben wir bei neuen Untersuchungen, bei denen es sich um

---

[1]) Winogradsky, in Lafar, Handb. d. techn. Mykol., Bd. III, p. 164, und an anderen Stellen.

peptonzersetzende Bakterien

handelte, die **Heyden**-Agarplattenmethode und die **Hiltner-Störmer**sche Verdünnungsmethode einerseits, das **Remy**sche Verfahren andererseits benutzt, und die damit erzielten Ergebnisse einer Betrachtung unterworfen. Früher sind vielfach ähnliche Untersuchungen durchgeführt worden. Beziehungen zwischen den auf beiden Wegen erlangten Resultaten sind aber kaum festgestellt worden. Die Grundlage für unsere Zähl- und Umsetzungsversuche lieferten wieder mit 2 Proz. Rohrzucker sowie mit 0,1 Proz. Ammoniak-N versetzte Böden. Etwa 4—5 Wochen nach dem Ansetzen der betreffenden Teller wurde zunächst mit der **Plattenmethode** die Zahl der auf **Heyden**-Agar wachsenden Bakterien ermittelt; ungefähr gleichzeitig wurde mit Hilfe der **Verdünnungsmethode** die Zahl der in Peptonlösung gedeihenden Organismen bestimmt (Tabelle 43). Wie schon nachgewiesen, beeinflußt der Zusatz von Ammoniak-N zum Boden die Zahl der Bakterien nur unwesentlich (vgl. Tabelle 21/22). Rohrzuckerbehandlung bewirkte, wie die folgende Tabelle zeigt, eine viel stärkere Steigerung der Zahl der **Heyden**-Agarwüchsigen, als der in Peptonlösung gedeihenden Bakterien:

	Bakterienzahl pro 1 g trockenen Bodens in Millionen.			
	Heyden-Agarplattenmethode.		Verdüunungsmethode.	
	Aussaatstärke pro Platte		Impfmenge pro Röhrchen	
	$^1/_{100}$ mg	$^1/_{400}$ mg	$^1/_{10000}$ mg	$^1/_{100000}$ mg
Boden ohne Zusatz	21,17	29,2	5	20
„ mit 2 Proz. Rohrzucker	—	269,4	—	70
„ „ 0,1 Proz. N	24,28	—	5	30

Bei den Lösungsversuchen nach **Remys Methode** (Tabelle 44) wurden Kolben mit 100 ccm 1-proz. Peptonlösung benutzt. Was das Pepton anlangt, so sei noch einmal wiederholt, daß, wie **Vogel** und **Zeller**[1]) vor kurzem fanden, dieses für solche Zwecke wenig geeignet ist; unsere Versuche wurden aber schon vor dem Erscheinen der Arbeit von **Vogel** und **Zeller** angestellt. Die Kolben mit Peptonlösung wurden jedesmal mit 10 g Boden beimpft. Die Versuchsdauer betrug 5 Tage. Bestimmt wurde das nach Zusatz von Magnesia usta freiwerdende Ammoniak, in einem Teile der Kolben am Anfange, in dem anderen am Schlusse der Versuche. Die verschiedene Behandlung des Bodens bewirkte aber nur sehr geringe Unterschiede. Während also die Plattenmethode eine außerordentlich starke Erhöhung der Zahl der Bakterien im Boden nach Zuckerzusatz anzeigte, und auch die durch die **Hiltner-Störmer**sche Verdünnungsmethode zum Ausdruck gebrachte Vermehrung der Bakterien immerhin noch eine sehr bedeutende war, wurde in dem Umsetzungsversuch nach **Remy** keine wesentliche Beschleunigung der Peptonzersetzung erzielt: die Bakterien haben sich in den Kolben mit Peptonlösung schon in kurzer Zeit ganz unabhängig von der eingeimpften Zahl auf dieselbe Höhe vermehrt; daher kommt es, daß schon nach 5 Tagen die Unterschiede zwischen dem vom mit Zucker versetzten Teller geimpften Kolben und dem Kontrollkolben verwischt sind. — Die Annahme, die man vielleicht machen könnte, daß nach dem Zuckerzusatz zur Impferde sich in erster Linie schwach ammoniakbildende Formen vermehrt haben, und deshalb der Gesamteffekt in den mit der Zuckererde beimpften Kolben nicht höher ausgefallen ist als in den Kontrollkolben, hat wenig Wahrscheinlichkeit für sich, weil die Ammoniakbildung unter den Bakterien eine so sehr weit verbreitete Eigenschaft ist.

---

[1]) **Vogel** und **Zeller**, Mitt. d. Kaiser-Wilhelms-Instit. f. Landw. in Bromberg. 1908. Heft 2.

Die Remysche Methode gestattet demnach nicht, eine Erhöhung der peptonzersetzenden Kraft bezw. eine Vermehrung der peptonzersetzenden Bakterien nach Zusatz von Zucker zum Boden nachzuweisen, während andererseits die Verdünnungsmethode wie auch die Plattenmethode ein starkes Ansteigen der Bakterienzahl nach Zuckerzusatz zum Boden zeigt.

Stickstoffzusatz zum Boden gab sowohl bei dem Zählversuch wie bei dem Umsetzungsversuch nach Remy keine wesentlichen Ausschläge hinsichtlich der Peptonzersetzung.

Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

A. Zur Methodik der Bakterienzählung.

1) Heyden-Agar gibt als Nährboden bei der Plattenmethode sicherere und im allgemeinen auch höhere Werte als Gelatinenährböden und ist auch den anderen von uns benutzten Agarnährböden (Bouillon-, Bodenextrakt-, Mannit-, Hefewasser-, Kohlextraktagar) überlegen.

2) Mit der Plattenzählmethode ist die absolute Zahl der bei Luftzutritt in Heyden-Agar wachsenden Bakterien nicht zu ermitteln, weil die auf den Platten schnell zu Kolonieen heranwachsenden Bakterien durch Ausscheidung der Stoffwechselprodukte oder durch Entziehung der Nährstoffe die in ihrer Nachbarschaft liegenden langsam sich vermehrenden Keime unterdrücken können. Das Plattenverfahren gibt aber annähernd vergleichbare Werte, wenn man die Zählplatten stets mit der gleichen Bodenmenge beimpft; bei sehr bedeutenden Unterschieden in der Bakterienzahl der zu vergleichenden Böden sind die so ermittelten Ausschläge indessen zu gering.

B. Der Einfluß verschiedener Faktoren auf die Bakterienzahl im Ackerboden.

3) Erhöhung und Erniedrigung der Bodentemperatur bewirkten bei Beobachtungen auf dem Felde und bei Tellerversuchen im Laboratorium nur sehr geringe Veränderungen in der Bakterienzahl.

Im gewachsenen Feldboden steigt und fällt die Bakterienzahl in der wärmeren Jahreszeit mit seinem Wassergehalte. Das Optimum des Wassergehalts liegt in diesem Boden sehr hoch; bei den im Laboratorium bei hoher Zimmertemperatur ausgeführten Tellerversuchen war schon ein geringerer Wassergehalt, ein Feuchtigkeitsgrad von etwa 80 Proz. der vollen Wasserkapazität, optimal.

Im Winter konnten Beobachtungen auf dem freien Felde nicht ausgeführt werden. Nach dem Ergebnisse einer im März angestellten Beobachtung scheint längerer Frost mit einer darauf folgenden längeren Einwirknng niederer Temperatur (0—5° C) die Bakterienzahl herunterzudrücken.

4) Zufuhr von organischer Substanz, wie Rohrzucker, Dextrose, Getreidestroh, weißem Senf, Wicken und Jauche zum Boden befördert die Vermehrung der Bakterien meist stark. Der Steigerung der Keimzahl folgt alsbald mit der durch die gegenseitige Konkurrenz bedingten Verschlechterung der Lebensbedingungen der Bakterien eine Abnahme. Demgemäß war z. B. im Feldboden ein Unterschied in der Zahl der

Bakterien nach Herbst- und Frühjahrsunterbringung des Stallmistes einige Zeit nach der Frühjahrsfurche nicht mehr vorhanden.

5) Ebenso wie im unbearbeiteten Boden, übt auch im bearbeiteten, besonders im Bracheboden, der Wassergehalt den Haupteinfluß auf die Bakterienzahl aus. Deshalb ist die Erhöhung der wasserhaltenden Kraft des Bodens durch eine Bearbeitung für die Erklärung der Brachewirkung auf die Bakterienzahl von großer Bedeutung.

Neben dem Wassergehalte kommt bei dieser Brachewirkung noch die organische Substanz des Bodens in Frage. So werden Unterbringung des Unkrautes und, wie nachgewiesen, auch Begrünung des Bodens mit Moosprotonema und Algen die Bakterienzahl steigern; Zerstörung der Begrünung durch Umpflügen oder Umgraben sie herabdrücken.

Die durch die Bodenbearbeitung bewirkte bessere Durchlüftung des Bodens scheint auf die Bakterienzahl nur einen untergeordneten Einfluß auszuüben.

6) Zufuhr mineralischer Nährstoffe zum Boden beeinflußt die Bakterienzahl in folgender Weise:

Ein Zusatz geringerer Mengen von Ammoniumsulfat zum Boden (0,05 g Ammoniak-N zu 100 g Boden) verändert die Zahl der Bakterien nicht. Größere Mengen von Ammoniumsulfat, ferner Natriumnitrat, Kaliumsulfat und wahrscheinlich auch Aetzkalk erhöhen sie in geringem Grade; Magnesiumsulfat steigert sie ziemlich beträchtlich; Superphosphat ist ohne Einfluß.

Auf die Stickstoffbindung im Göttinger Versuchsfeldboden wirken diese mineralischen Nährstoffe nach den Untersuchungen von A. Koch dagegen in folgender Weise ein: Aetzkalk, Kaliumsulfat, vielleicht auch Magnesiumsulfat erniedrigen die Stickstoffbindung. Phosphorsäure besonders als Superphosphat erhöht sie beträchtlich.

Mineralische Nährstoffe beeinflussen also die Bakterienzahl und die Stickstoffbindung im Göttinger Boden nicht im gleichen Sinne.

7) Aehnlich wie die Gesamtbakterienzahl, steigt und fällt im Lehmboden auch die Zahl der $^1/_2$-stündiges Erhitzen in Heyden-Agar bei 100° C überdauernden Sporen mit dem Wassergehalte; Austrocknen des Bodens begünstigt also die Bildung der widerstandsfähigen Sporen nicht.

Die Zahl der Sporen erhöht sich nach dem Zusatze von Zucker zum Boden trotz der starken danach eintretenden Vermehrung der Bakterien nicht.

C. Vergleich der Bakterienzählungen und der Umsetzungsversuche nach Remy.

8) Die Zahl der stickstoffbindenden und peptonzersetzenden Bakterien steigert sich nach dem Zusatze von Zucker zum Boden bedeutend. In den entsprechenden Umsetzungsversuchen nach Remys Methode bleibt diese größere Zahl der Bakterien in der Impferde indessen ohne Einfluß auf das Resultat, weil die stickstoffbindenden und peptonzersetzenden Bakterien sich in den Lösungen schon in kurzer Zeit ganz unabhängig von der eingeimpften Zahl auf dieselbe Höhe vermehren. Von den beiden Faktoren, die für die Leistungen der Bakterien im Ackerboden wesentlich maßgebend sind, nämlich der Zahl der Bakterien einerseits, der individuellen Leistungsfähigkeit andererseits, findet also der erstere im Resultat des Umsetzungsversuches keinen entsprechenden Ausdruck.

Anders ist es bei nitrifizierenden Bakterien. Auch deren Zahl wird sich durch den Zusatz von Energiematerial, z. B. Ammoniumsulfat, zum Boden erhöht haben. Weil die nitrifizierenden Bakterien sich aber ungemein langsam vermehren, so wird ihre größere Zahl in der mit Ammoniumsulfat versetzten Impferde durch das Resultat des Umsetzungsversuches angezeigt.

Durch einen Zusatz von Ammoniumsulfat zum Boden wird die Zahl der stickstoffbindenden und peptonzersetzenden Bakterien nicht wesentlich verändert. Auch das Ergebnis des Umsetzungsversuches mit peptonzersetzenden Bakterien wird kaum beeinflußt.

Ein Zusatz von bedeutenden Zuckermengen zum Boden schwächt die Lebenskraft der nitrifizierenden Bakterien. Darauf deuten sowohl die verzögerte Bildung von Stickstoffsäuren bei den Versuchen nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode hin, wie auch die geringere Nitrifikation in dem Umsetzungsversuche nach Remy.

Anhang.

Nach dem Abschlusse dieser Arbeit erschien eine Publikation von O. Lemmermann, H. Fischer, H. Kappen und E. Blanck (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXVIII. 1909. p. 356 ff.), in welcher auch Versuche über die Wirkung einiger Einflüsse auf die Bakterienzahl im Ackerboden mitgeteilt werden. Hinsichtlich der Wirkung von Aetzkalk gelangten die Verf. bei ihren Ackerböden zu ähnlichen Ergebnissen wie wir. Bezüglich des Einflusses des Wassergehaltes auf die Bakterienzahl kamen sie nicht zu einem eindeutigen Ergebnis; im Tonboden und im Sandboden beobachteten sie nach Wasserzufuhr eine Erhöhung der Bakterienzahl, im sandigen Lehmboden machte sich dagegen eine Abnahme der Keimmenge bemerkbar; die sehr humosen Böden zeigten bald hohe, bald niedere Keimzahlen. Vielleicht würde das Resultat dieser orientierenden Zählversuche ein klareres sein, wenn Verf. eine größere Anzahl von Parallelplatten hätten benutzen können; denn H. Fischer, der Referent des bakteriologischen Teiles dieser Arbeit, bemerkt ausdrücklich: „Für exaktere Versuche wäre freilich nötig, eine größere Anzahl von Platten zu gießen, um . . . .“

Im übrigen kann auf die mancherlei Beziehungen, welche die zitierte Arbeit mit der unserigen hat, hier nur kurz verwiesen werden.

Unseren Bemerkungen über die sogenannte Remysche Methode ist weiter hinzuzufügen, daß auch Remy selbst in einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen Publikation (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XXII. 1909. p. 607) auf die geringe „diagnostische Verläßlichkeit“ der Impfversuche mit Beijerinckscher Mannitlösung hinweist. Sie kann nach Remy zwar benutzt werden, „um größere Unterschiede im Azotobacter-Reichtum der Böden anzuzeigen“, — „für den Nachweis kleinerer Unterschiede ist aber die Beijerincksche Mannitlösung ungeeignet . . .“

Tabellen.

Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Bakterienzahl.

Tabelle 1 vom 10. Juli 1907.

Lehmboden; Volle Wasserkapazität desselben 21,69 Proz.
Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginne der Versuche: 15,44 Mill.
Wassergehalt des Bodens beim Beginne der Versuche: 15,59 Proz.

Prozente der vollen Wasserkapazität	Wassergehalt des Bodens in %	1. Untersuchung am 16. Juli 1907		2. Untersuchung am 17. August 1907		3. Untersuchung am 2. September 1907	
		Zahl der Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen	Zahl der Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen	Zahl der Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen
30	6,51	8,45	15,96	19,59	49,1		
50	10,85	10,57	20,0	26,99	67,7	28,12	54,9
80	17,35	52,96	100	39,89	100	51,24	100

Tabelle 2 vom 10. Juli 1907

$^{2}/_{3}$ Lehmboden, $^{1}/_{3}$ Sand; volle Wasserkapazität des Bodengemisches: 17,96 Proz.
Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginn der Versuche: 10,13 Mill.
Wassergehalt des Bodens beim Beginn der Versuche: 11,32 Proz.

Prozente der vollen Wasserkapazität	Wassergehalt des Bodens in %	1. Untersuchung am 17. Juli 1907		2. Untersuchung am 28. August 1907	
		Zahl der Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Relative Zahlen	Zahl der Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Relative Zahlen
30	5,39	10,36	24,9	25,73	72,5
50	8,98	8,70	20,9	30,50	86,0
80	14,37	41,69	100	35,48	100

Tabelle 3 vom 31. August 1907.

Lehmboden; volle Wasserkapazität desselben: 21,69 Proz.
Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginn der Versuche: 20,94 Mill.
Wassergehalt des Bodens beim Beginn der Versuche: 15,09 Proz.

Datum der Untersuchung	Prozente der vollen Wasserkapazität	Wassergehalt des Bodens in %	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Relative Zahlen
1907				
11. September	30	6,51	9,98	33,3
10. „	50	10,85	11,89	39,7
10. „	65	14,10	16,41	54,8
9. „	80	17,35	29,96	100
9. „	100	21,69	25,28	84,4

Tabelle 4.

Periodische Untersuchungen der Parzelle Ia.

Parzelle Ia: unbebaut, unbearbeitet.

Woche vom	Bodentemperatur in 10 cm Tiefe. Mittel pro Woche °C	Regenhöhe. Summe pro Woche in mm	Die höchsten Regenmengen fielen am	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen
1907				1907			
24.—30. Juni	17,2	24,1	**29.**, 30. Juni				
1.— 7. Juli	15,3	31,0	1., 2. Juli	4. Juli	18,40	11,37	100
8.—14. „	15,7	26,8	11., 13. „	12. „	19,20	13,42	118,0
15.—21. „	16,5	1,0					
22.—28. „	16,1	12,4	23., 24. „	26. „	16,43	10,75	94,6
29. Juli bis 4. August	16,0	39,8	**29.**, 31. „	3. Aug.	18,91	14,41	126,7
5.—11. Aug.	17,6	5,8	**11.** August				
12.—18. „	16,6	20,4	**15.**, 16. „	14. „	16,58	13,09	115,1
19.—25. „	14,5	22,7	**19.**, 24. „				
26. Aug. bis 1. Sept.	16,0	21,9	29., 30. „ 1. Sept.				
2.— 8. Sept.	15,9	22,6	4. Sept.	6. Sept.	19,21	16,34	143,7
9.—15. „	17,3	35,1	**14.**, 15. „				
16.—22. „	14,2	0,3					
23.—29. „	14,1	0		26. „	16,55	20,85	183,4
30. Sept. bis 6. Oktober	13,6	17,1	6. Oktober				
7.—13. Okt.	13,2	2,2					
14.—20. „	11,9	2,7		15. Okt.	18,10	15,20	133,7
				1908			
				28. März	17,52	13,92	122,4
				19. Mai	17,24	11,36	99,9
				7. Juli	13,23	8,62	75,8
				21. „	17,85	8,98	78,9

Tabelle 5.

Periodische Untersuchungen der Parzelle 15.

Parzelle 15 des Versuchsfeldes: 1906 Runkelrüben, 1907 Sommergerste, 1908 Pferdebohnen.

Woche vom	Bodentemperatur in 10 cm Tiefe. Mittel pro Woche °C	Regenhöhe. Summe pro Woche in mm	Die größten Regenmengen fielen am	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen
1907				1907			
17.—23. Juni	17,3	5,4	21. Juni				
24.—30. „	17,2	24,1	26., **29.**, 30. „				
1.— 7. Juli	15,3	31,0	1., 2. „	5. Juli	17,57	16,89	100
8.—14. „	15,7	26,8	11., 13. „				
15.—21. „	16,5	1,0		20. „	14,25	25,04	148,3
22.—28. „	16,1	12,4	23., 24. „				
29. Juli bis 4. August	16,0	39,8	**29.**, 31. „	2. Aug.	18,49	15,27	90,4

Woche vom	Bodentemperatur in 10 cm Tiefe. Mittel pro Woche °C	Regenhöhe. Summe pro Woche in mm	Die größten Regenmengen fielen am	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen
1907				1907			
5.—11. Aug.	17,6	5,8	11. Aug.				
12.—18. „	16,6	20,4	15., 16. „	13. Aug.	16,98	8,81	52,2
19.—25. „	14,5	22,7	19., 24. „	22. „	19,32	17,17	101,7
26. Aug. bis 1. Sept.	16,0	21,9	29., 30. Aug., 1. Sept.	2. Sept.	19,17	19,20	113,7
2.— 8. Sept.	15,9	22,6	4. Sept.				
9.—15. „	17,3	35,1	14., 15. „	15. „	21,08	24,58	145,5
16.—22. „	14,2	0,3					
23.—29. „	14,1	0					
30. Sept. bis 6. Okt.	13,6	17,1	6. Oktober	2. Okt.	17,49	27,06	160,2
7.—13. Okt.	13,2	2,2					
14.—20. „	11,9	2,7		14. „	18,33	14,78	87,5
1907/08				1907/08			
23.—29. Dez.	2,6	6,0					
30. Dez. bis 5. Jan.	—0,4	1,1					
6—12. Jan.	—0,6	7,5	9. Januar	9. Jan.	22,73	19,76	117,0
13.—19. „	—1,1	0,8					
20.—26. „	—0,7	0,3					
27. Jan. bis 2. Febr.	—0,3	33,6	27., 28., 29. Jan., 1. Febr.	28. „	26,02	17,42	103,1
3.— 9. Febr.	—0,2	3,4					
10.—16. „	0,1	1,6					
17.—23. „	3,2	24,8	18., 23. Febr.				
24. Febr. bis 1. März	2,8	15,6	24. „				
2.— 8. März	2,9	1,0					
9.—15. „	3,5	14,5					
16.—22. „	4,4	1,7					
23.—29. „	5,5	0		27. März	18,15	10,36	61,3
30. März bis 5. April	6,3	16,4	30., 31. März				
6.—12. April	7,7	22,1	7. April				
13.—19. „	8,6	13,5	13. „				
20.—26. „	6,9	28,5	23., 26. „				
27. April bis 3. Mai	9,9	6,0					
4.—10. Mai	13,4	5,3					
11.—17. „	14,3	12,8	13. Mai				
18.—24. „	16,7	35,4	21., 22., 23. „	19. Mai	17,39	11,36	67,3
25.—31. „	14,6	18,7	26., 29. „				
1.— 7. Juni	18,9	31,3	2., 5. Juni	2. Juni	18,14	15,37	91,0
8.—14. „	16,9	12,9	9., 13. „				
15.—21. „	20,1	13,6	17. „				
22.—28. „	18,7	3,6	22. „				
29. Juni bis 5. Juli	21,6	0					
6.—12. Juli	19,6	19,0	9. Juli	6. Juli	8,56	5,06	33,4
13.—19. „	18,2	15,4	13., 18. „	21. „	11,71	4,42	26,2

Tabelle 6.

Periodische Untersuchungen der Parzelle 21.

Parzelle 21 des Versuchsfeldes: 1906 Hafer, 1907 Kartoffeln, 1908 Winterweizen. Am 7. November 1906 wurde Stallmist, 200 Zentner pro Morgen, untergepflügt.

Woche vom	Bodentemperatur in 10 cm Tiefe. Mittel pro Woche °C	Regenhöhe. Summe pro Woche in mm	Die größten Regenmengen fielen am	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Relative Zahlen
1907				1907			
3.— 9. Juni	15,2	12,6	3., 7. Juni				
10.—16. „	18,7	26,9	12., 13. „				
17.—23. „	17,3	5,4					
24.—30. „	17,2	24,1	26., 29., 30. „				
1.— 7. Juli	15,3	31,0	1., 2. Juli	5. Juli	19,13	20,25	100
8.—14. „	15,7	26,8	11., 13. „				
15.—21. „	16,5	1,0		20. „	17,73	25,87	127,8
22.—28. „	16,1	12,4	23., 24. „				
29. Juli bis 4. Aug.	16,0	39,8	29., 31. „	2. Aug.	20,28	14,24	70,3
5.—11. Aug.	17,6	5,8	11. Aug.				
12.—18. „	16,6	20,4	15., 16. „	13. „	17,07	14,03	69,3
19.—25. „	14,5	22,7	19., 24. „	22. „	20,59	21,51	106,2
26. Aug. bis 1. Sept.	16,0	21,9	29., 30. Aug. 1. Sept.				
2.— 8. Sept.	15,9	22,6	4. Sept.	2. Sept.	20,14	26,42	130,5
9.—15. „	17,3	35,1	14., 15. „	15. „	19,84	70,01	345,7
16.—22. „	14,2	0,3					
23.—29. „	14,1	0					
30. Sept. bis 6. Okt.	13,6	17,1	6. Oktober	1. Okt.	17,81	39,42	194,7
7.—13. Okt.	13,2	2,2					
14.—20. „	11,9	2,7		14. „	18,99	20,84	102,9
1908				1908			
16.—22. März	4,4	1,7					
23.—29. „	5,5	0		28. März	18,42	15,35	75,8
30. März bis 5. April	6,3	16,4	30., 31. März				
6.—12. April	7,7	22,1	7. April				
13.—19. „	8,6	13,5	13. „				
20.—26. „	6,9	28,5	23., 26. „				
27. April bis 3. Mai	9,9	6,0					
4.—10. Mai	13,4	5,3					
11.—17. „	14,3	12,8	13. Mai				
18.—24. „	16,7	35,4	21., 22., 23. „	18. Mai	18,42	16,43	81,1
25.—31. „	14,6	18,7	26., 29. „				
1.— 7. Juni	18,9	31,3	2., 5. Juni	2. Juni	19,09	20,07	99,1
8.—14. „	16,9	12,9	9., 13. „				
15.—21. „	20,1	13,6	17. „				
22.—28. „	18,7	3,6	22. „				
29. Juni bis 5. Juli	21,6	0					
6.—12. Juli	19,6	19,0	9. Juli				
13.—19. „	18,2	15,4	13., 18. „	6. Juli	10,92	10,80	53,2
20.—26. „	20,5	0,9	21. „				
27. Juli bis 2. Aug.	20,0	4,4		21. „	13,45	5,89	29,1
3.—9. Aug.			7. August	6. Aug.	12,97	6,62	32,7

Einfluß der Temperatur auf die Bakterienzahl.

Tabelle 7 vom 28. Januar 1908.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 16 Proz. Um den Boden schnell auf diesen Wassergehalt zu bringen, wurden die Teller beim Beginn der Versuche 1 Tag im Brutzimmer bei ca. 25° C aufgehoben.

Bakterienzahl im Boden (auf Boden mit 16 Proz. Wasser berechnet) beim Beginn der Versuche: 17,42 Millionen.

Datum der Untersuchung	Temperatur, bei welcher die Teller aufbewahrt wurden ° C	Bakterienzahl in 1 g Boden (mit 16 Proz. Wasser) in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
13. Febr.	ca. 20	24,6	100
	8—10	20,22	82,2
	Teller No. III und IV		
13. Febr.	ca. 20	25,34	100
	8—10	21,5	84,8

Tabelle 8 vom 25. Februar 1908.

Lehmboden. Wassergehalt desselben 17,35 Proz. Am 25. Februar wurden die vier zu dem Versuche dienenden Teller in das Brutzimmer (ca. 20—22° C) gestellt, der Boden in den Tellern am 27. Februar auf den Wassergehalt von 17,35 Proz. gebracht und zwei Teller von diesem Tage an bei einer Temperatur von 8—10° C aufbewahrt.

Bakterienzahl im Boden bei Beginn der Versuche (auf 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser berechnet): 17,48 Millionen.

Datum der Untersuchung	Temperatur, bei welcher die Teller aufbewahrt wurden ° C	Bakterienzahl in 1 g Boden (mit 17,35 Proz. Wasser) in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
5. März	20—22	31,70	100
5. „	8—10	25,64	80,9
18. „	20—22	25,08	100
18. „	8—10	23,44	93,5
	Teller No. III und IV		
20. März	20—22	26,92	100
20. „	8—10	24,6	91,38

Einfluß der Bodenbearbeitung auf die Bakterienzahl.

Tabelle 9.

Diese Versuche wurden auf zwei nebeneinanderliegenden, ca. 3 qm großen Feldparzellen (II und III) ausgeführt.

Die Parzelle II wurde am 5. Mai und 10. Juli 1908 umgegraben.

Datum der Untersuchung	Feldparzelle II, bearbeitet		Feldparzelle III, nicht bearbeitet		Relative Zahlen		Bemerkungen
	Wassergehalt des Bodens in Proz.	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Wassergehalt des Bodens in Proz.	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Feldparzelle II bearbeitet	Feldparzelle III nicht bearbeitet	
1908							Am 5. Mai wurde Parzelle II umgegraben
4. Mai	18,00	15,48	18,51	15,09	100	100	
8. „	17.14	15,70	17,58	11,92	101,4	79,0	
11. „	16,16	18.22	16,24	16,20	117,3	107,3	
7. Juli	13,74	10,92	12,96	10.22	100	100	Am 10. Juli wurde Parzelle II umgegraben
14. „	16,57	16,23	15,0	10,91	148,6	106,7	
28. „	15,54	6,18	12,58	3,33	56,6	32,5	
6. Aug.	15,96	7,84	14,99	6,04	71,8	59,1	

Tabelle 10. Brache-Fruchtfolge.

Parzelle 8 b: 1905 Senf als Gründüngung, 1906 Runkelrüben, 1907 Sommergerste, 1908 Brache. Parzelle 10 b: 1904 Senf als Gründüngung, 1905 Runkelrüben, 1906 Hafer, 1907 Brache, 1908 Sommergerste. Parzelle 10 a: **1904 Brache, 1905 Runkelrüben, 1906 Hafer, 1907 Brache, 1908 Runkelrüben.**

Woche vom	Bodentemperat. in 10 cm Tiefe. Mittel pro Woche	Regenhöhe. Summe pro Woche	Die größten Regenmengen fielen am	Datum der Untersuchung	Brache, Parzelle 8 b		Sommergerste Parzelle 10 b		Runkelrüben, Parzelle 10 a		Relative Zahlen (Zahl d. Bakterien)		
					Wassergehalt des Bodens	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens	Wassergehalt des Bodens	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens	Wassergehalt des Bodens	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens	Brache, Parzelle 8b	Sommergerste, Parzelle 10 b	Runkelrüben, Parzelle 10 a
	° C	in mm			in Proz.	in Million.	in Proz.	in Million.	in Proz.	in Million.			
1908				1908									
2.— 8. März	2,9	1,0											
9.—15. „	3,5	14,5											
16.—22. „	4,4	1,7											
23.—29. „	5,5	0											
30. März bis 5. April	6,3	16,4	30., 31. März										
6.—12. April	7,7	22,1	7. April										
13.—19. „	8,6	13,5	13. April										
20.—26. „	6,9	28,5	23., 26. April										
27. April bis 3. Mai	9,9	6,0		29. April	18,69 (Bearbeit.	26,12 am 4. V.)	16,09	12,35	17,55	12,80	100 (Bearb. am 4. V.)	47,3	49,0
4.—10. Mai	13,4	5,3		7. Mai	17,31	14,13	17,01	15,67	16,91	17,56	54,1	60,0	67,2
11.—17. „	14,3	12,8	13. Mai										
18.—24. „	16,7	35,4	21., 22., 23. Mai										
25.—31. „	14,6	18,7	26., 29. Mai										
1.— 7. Juni	18,9	31,3	2., 5. Juni	2. Juni	17,87	11,77	16,98	12,86	17,00	12,01	45,1	49,2	45,9
8.—14. „	16,9	12,9	9., 13. „		(Bearbeitung am	17. Juni)					(Bearb. am 17. VI.)		
15.—21. „	20,1	13,6	17. „										
22.—28. „	18,7	3,6	22. „										
29. Juni bis 5. Juli	21,6	0											
6.—12. Juli	19,6	19,0	9. Juli	6. Juli	16,20	15,04	11,55	10,15	12,74	9,03	57,6	38,9	34,6
13.—19. „	18,2	15,4	13., 18. Juni										
20.—26. „	20,5	0,9		21. Juli	14,53	11,35	15,69	8,50	13,20	5,70	43,4	32,5	21,8
27. Juli bis 2. Aug.	26	4,4											
3.—9. Aug.			7. Aug.	6. Aug.	16,76	11,04	15,16	7,86			42,3	30,1	

Einfluß organischer Substanzen auf die Bakterienzahl.

Tabelle 11 vom 25. Februar 1908.

Einfluß von Rohrzucker auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien beim Beginn der Versuche bei Verwendung einer Aussaatstärke von $^1/_{100}$ mg: 17,78 Millionen; bei Verwendung einer Aussaatstärke von $^1/_{400}$ mg: 18,62 Millionen (pro 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser).

Aussaatmenge in die einzelnen Platten in mg	Datum der Untersuchung	Zugesetzt pro 100 g Boden Gramm Rohrzucker	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
		Teller No. I und II		
1908				
$^1/_{400}$	6. März	0	27,76	100
$^1/_{400}$	6. „	2	81,12	292,2
$^1/_{400}$	18. „	0	31,76	100
$^1/_{400}$	18. „	2	486,3	1531
		Teller No. III und IV		
$^1/_{400}$	9. März	0	31,84	100
$^1/_{400}$	9. „	2	215,7	677,4
$^1/_{400}$	20. „	0	39,2	100
$^1/_{400}$	20. „	2	504,6	1286
$^1/_{400}$	23. „	0	41,7	100
$^1/_{400}$	23. „	2	434,0	1041

Tabelle 12 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Rohrzucker auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 12,4 Millionen. (Aussaatstärke pro Platte $^1/_{400}$ mg.)

Aussaatmenge in die einzelnen Platten in mg	Datum der Untersuchung	Zugesetzt pro 100 g Boden Gramm Rohrzucker	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
		Teller No. I und II		
1908				
$^1/_{500}$	17. Juni	0	27,17	100
$^1/_{500}$	17. „	2	373,8	1376
$^1/_{500}$	4. Aug.	0	34,7	100
$^1/_{500}$	4. „	2	141,35	407,3
		Teller No. III und IV		
$^1/_{400}$	19. Juni	0	29,2	100
$^1/_{400}$	19. „	2	269,4	922

Tabelle 13 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Dextrose auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden Gramm Dextrose	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I und II		
1908			
17. Juni	0	19,78	100
17. „	0,5	71,87	363,3
3. Aug.	0	29,4	100
4. „	0,5	52,73	179,3
	Teller No. III und IV		
19. Juni	0	21,17	100
19. „	0,5	62,15	293,6
4. Aug.	0	31,28	100
4. „	0,5	34,1	109

Tabelle 14 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Getreidestroh auf die Bakterienzahl im Boden.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 500 g Boden Gramm Getreidestroh	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I und II		
1908			
9. Juli	0	17,48	100
9. „	20	64,1	366,7
3. Aug.	0	29,4	100
3. „	20	43,98	149,6
	Teller No. III und IV		
10. Juli	0	17,93	100
10. „	20	73,9	412,1
4. Aug.	0	31,28	100
4. „	20	73,13	233,8

Tabelle 15 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von weißem Senf auf die Bakterienzahl im Boden.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 500 g Boden Gramm Senf	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I und II		
1908			
9. Juli	0	17,48	100
9. „	20	100,8	576,6
3. Aug.	0	29,4	100
3. „	20	77,78	264,5
	Teller No. III und IV		
10. Juli	0	17,93	100
10. „	20	87,65	433,8
4. Aug.	0	31,28	100
4. „	20	79,05	252,7

Tabelle 16 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Wicken auf die Bakterienzahl im Boden.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 500 g Boden Gramm Wicken	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I und II		
1908			
9. Juli	0	17,48	100
9. „	20	84,58	483,9
3. Aug.	0	29,4	100
4. „	20	69,1	235,0
	Teller No. III und IV		
11. Juli	0	17,93	100
11. „	20	85,1	474,6
4. Aug.	0	31,28	100
4. „	20	53,4	170,7

Tabelle 17.

Einfluß der Stallmistdüngung.

	Stallmistfruchtfolge	Stallmist untergebracht
Parzelle 21:	1906 Hafer, 1907 Kartoffeln, 1908 Winterweizen.	7. Nov. 1906
„ 18a:	1906 Roggen, 1907 Hafer, 1908 Kartoffeln.	16. Okt. 1907
„ 18b:	1906 Roggen, 1907 Hafer, 1908 Kartoffeln.	28. März 1908

Winterweizen Parz. 21 Stallmist Herbst 1906			Kartoffeln Parz. 18 a Stallmist Herbst 1907			Kartoffeln Parz. 18 b Stallmist Frühj. 1908			Bakterienzahl in relativen Werten		
Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens Proz.	Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens Proz.	Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens Proz.	Bakterien in 1 g trockenen Bodens in Mill.	Winterweizen Parz. 21 Stallmist Herbst 1906	Kartoffeln Parz. 18a Stallmist Herbst 1907	Kartoffeln Parz. 18b Stallmist Frühj. 1908
1908			1908			1908					
18. Mai	18,42	16,43	18. Mai	17,33	19,93	18. Mai	18,12	23,81	82,4	100	119,5
2. Juni	19,09	20,07	1. Juni	18,05	21,72	1. Juni	18,68	18,96	100,7	109,0	95,1
6. Juli	10,92	10,80	7. Juli	12,70	12,52	7. Juli	12,79	11,51	54,1	62,8	57,7
21. „	13,45	5,89	21. „	15,98	6,13	21. „	25,55	5,92	29,6	30,8	29,7
6. Aug.	12,97	6,22				6. Aug.	13,81	9,41	31,2		47,2

Tabelle 18 vom 10. Juli 1907.

Einfluß von Jauche auf die Bakterienzahl im Boden.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 10,84 Proz. Ein Teller mit 20 ccm Jauche, ein Teller ohne Jauche. Bakterienzahl in 1 ccm Jauche: 5,49 Millionen. Trockener Boden pro Teller 422 g; d. h. pro 1 g trockenen Bodens sind in der Jauche 0,26 Millionen Bakterien gegeben.

Datum der Untersuchung	Aussaatmenge in die einzelnen Platten in mg Boden	Zugesetzt auf 422 g trockenen Bodens ccm Jauche	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
1907				
16. Juli	$^1/_{200}$	0	10,90	100
19. „	$^1/_{300}$	20	18,93	173,7
17. Aug.	$^1/_{400}$	0	28,54	100
23. „	$^1/_{400}$	20	115,57	404,9
1. Sept.	$^1/_{400}$	0	45,09	100
6. „	$^1/_{400}$	20	80,50	178,5

Tabelle 19.

Einfluß einer Jauchedüngung auf die Bakterienzahl im Boden.

Parzellen Ia und Ib. Am 18. Juni 1907 erhielt die Parzelle Ib eine Jauchedüngung von 2 l pro Quadratmeter. Die Bakterienzahl in 1 ccm der zugesetzten Jauche betrug ca. 5,49 Millionen, d. h. pro Quadratmeter wurden dem Boden ca. 10980 Millionen Bakterien zugesetzt.

Datum der Untersuchung	Aussaatstärke in die einzelnen Platten in mg Boden	Parzelle I a, unbebaut ohne Jauchedüngung		Parzelle I b, unbeb. mit 2 l Jauche pro qm gedüngt		Bakterienzahl in relativen Werten	
		Wassergehalt des Bodens Proz-	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Wassergehalt des Bodens Proz.	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens in Millionen	Parzelle I a unbebaut ohne Jauchedüngung	Parzelle Ib unbebaut mit 2 l Jauche pro qm gedüngt
1907							
17. Juni	$^1/_{200}$	13,90	24,66	12,89	19,17	100	100
4. Juli	$^1/_{100}$	18,40	11,37	17,48	12,79	46,1	66,7
12. „	$^1/_{100}$	19,20	13,42	18,29	15,00	54,4	78,2
26. „	$^1/_{100}$	16,43	10,75	16,45	9,29	43,6	48,4
3. Aug.	$^1/_{100}$	18,91	14,41	18,56	12,99	58,4	67,7
6. Sept.	$^1/_{100}$	19,21	16,34	17,87	13,36	66,3	69,4
26. „	$^1/_{100}$	16,55	20,85	16,17	17,00	84,6	88,7

Tabelle 20 vom 30. Juni 1908.
Einfluß von Jauche auf die Bakterienzahl im Boden.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Bakterienzahl in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 10,8 Millionen.

Pro Teller: 511 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser.

2 Teller ohne Zusatz.

2 Teller mit einem Zusatze von 20 ccm mit H_2SO_4 neutralisierter, steriler Jauche.

2 Teller mit einem Zusatze von 20 ccm sehr schwach alkalischer Jauche, die pro 1 ccm 11,7 Millionen Bakterien aufwies, d. h. pro 1 g Boden sind in der Jauche 0,458 Millionen Bakterien zugesetzt worden.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 511 g Boden: Kubikzentimeter Jauche	Zugesetzt auf 511 g Boden: Millionen Bakterien	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
		Teller No. I, II und III		
1908				
28. Juli	—	—	6,55	100
28. „	20	(steril)	9,9	151,1
28. „	20	234	9,3	142,0
5. August	—	—	9,0	100
5. „	20	(steril)	17,8	197,8
5. „	20	234	8,22	91,3
		Teller No. IV, V und VI		
29. Juli	—	—	7,51	100
29. „	20	(steril)	10,88	144,9
29. „	20	234	9,67	128,8
5. August	—	—	10,13	100
5. „	20	(steril)	11,69	115,4
5. „	20	234	9,7	95,7

Einfluß mineralischer Düngemittel auf die Bakterienzahl im Boden.

Tabelle 21 vom 25. Februar 1908.
Einfluß von Ammoniumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 17,78 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm Ammoniak-N	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I, II und III		
1908			
5. März	0	31,70	100
5. „	0,1	45,34	143,1
18. „	0	25,08	100
18. „	0,05	26,4	105,3
18. „	0,1	28,66	114,3
	Teller No. IV, V und VI		
9. März	0	29,74	100
9. „	0,05	27,38	92,6
20. „	0	26,92	100
20. „	0,05	26,52	98,5
20. „	0,1	35,7	132,6

Tabelle 22 vom 21. Mai 1908.
Einfluß von Ammoniumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm Ammoniak-N	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Bakterienzahl in relativen Werten
	Teller No. I und II		
1908			
17. Juni	0	19,78	100
17. „	0,1	23,42	118,4
	Teller No. III und IV		
19. Juni	0	21,17	100
19. „	0,1	24,28	114,7

Tabelle 23 vom 21. Mai 1908.
Einfluß von Natriumnitrat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,68 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm Salpeter-N	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
3. Juni	0	15,78	100
3. „	0,1	18,53	117,4
9. Juli	0	17,48	100
9. „	0,1	23,43	134,0
	Teller No. III und IV		
10. Juli	0	17,93	100
10. „	0,1	22,15	123,5

Tabelle 24 vom 30. Juni 1908.
Einfluß von Natriumnitrat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 10,8 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm Salpeter-N	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
1908			
29. Juli	0	7,51	100
29. „	0,1	17,16	228,5

Tabelle 25 vom 25. Februar 1908.

Einfluß von Kaliumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche. 17,78 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm K_2O	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
5. März	0	31,70	100
5. „	0,5	36,24	114,3
18. „	0	25,08	100
18. „	0,5	31,22	124,5
	Teller No. III und IV		
9. März	0	29,74	100
9. „	0,5	28,16	94,7
20. „	0	26,9	100
20. „	0,5	35,7	132,8

Tabelle 26 vom 30. Juni 1908.

Einfluß von Kaliumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 10,8 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm K_2O	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
28. Juli	0	6,55	100
28. „	0,5	10,23	156,2
	Teller No. III und IV		
29. Juli	0	7,51	100
29. „	0,5	8,57	114,1

Tabelle 27 vom 25. Februar 1908.

Einfluß von Aetzkalk auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 17,78 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm CaO	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
5. März	0	31,70	100
5. „	0,1	44,0	138,8
18. „	0	25,08	100
18. „	0,1	25,22	100,6
	Teller No. III und IV		
9. März	0	29,74	100
9. „	0,1	34,38	115,6
20. „	0	26,92	100
20. „	0,1	24,56	91,2

Tabelle 28 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Aetzkalk auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,38 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm CaO	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
3. Juni	0	15,78	100
3. „	0,1	16,35	103,6
9. Juli	0	17,48	100
9. „	0,1	25,52	146
	Teller No. III und IV		
5. Juni	0	14,08	100
5. „	0,1	18,37	130,4
10. Juli	0	17,93	100
10. „	0,1	22,9	127,7

Tabelle 29 vom 21. Mai 1908.

Einfluß von Magnesiumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 9,38 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm MgO	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
3. Juni	0	15,78	100
3. „	0,5	22,85	144,8
9. Juli	0	17,48	100
9. „	0,5	28,28	161,8
	Teller No. III und IV		
5. Juni	0	14,08	100
5. „	0,5	19,32	137,2
10. Juli	0	17,93	100
10. „	0,5	31,25	174,3

Tabelle 30 vom 30. Juni 1908.

Einfluß von Magnesiumsulfat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 10,8 Millionen.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden: Gramm MgO	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
28. Juli	0	6,55	100
28. „	0,5	11,35	173,3
	Teller No. III und IV		
29. Juli	0	7,51	100
29. „	0,5	13,18	175,5

Tabelle 31 vom 25. Februar 1908.

Einfluß von Superphosphat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 17,78 Mill.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden Gramm Superphosphat	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
5. März	0	31,70	100
5. „	0,1	32,92	103,9
18. „	0	25,08	100
18. „	0,1	29,54	117,8
	Teller No. III und IV		
20. März	0	26,92	100
20. „	0,1	28,38	105,4

Tabelle 32 vom 30. Juni 1908.

Einfluß von Superphosphat auf die Bakterienzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Zahl der Bakterien in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche: 10,8 Mill.

Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden Gramm Superphosphat	Bakterienzahl in 1 g Boden mit 17,35 Proz. Wasser in Millionen	Relative Zahlen
	Teller No. I und II		
1908			
28. Juli	0	6,55	100
28. „	0,1	7,37	112,5
	Teller No. III und IV		
29. Juli	0	7,51	100
29. „	0,1	7,4	98,5

Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Zahl der $^1/_2$-stündiges Erhitzen bei 100° C überdauernden Bakteriensporen im Boden.

Tabelle 33 vom 10. Juli 1907.

Lehmboden; volle Wasserkapazität desselben: 21,69 Proz. Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginn der Versuche: 13676. Wassergehalt des Bodens bei dieser Zählung: 15,59 Proz.

Prozente der vollen Wasserkapazität	Wassergehalt des Bodens in %	1. Untersuchung am 16. Juli 1907		2. Untersuchung am 17. August 1907		3. Untersuchung am 2. September 1907	
		Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens (Aussaatstärke pro Platte 10 mg)	Relative Zahlen	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens (Aussaatstärke pro Platte 10 mg)	Relative Zahlen	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens (Aussaatstärke pro Platte 5 mg)	Relative Zahlen
30	6,51	12 889	57,5	10 946	54,4		
50	10,85	10 973	49,0	11 479	57,0	18 395	51,4
80	17,35	22 405	100	20 126	100	35 815	100

Tabelle 34 vom 31. August 1907.

Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Sporenzahl.

Lehmboden; volle Wasserkapazität desselben: 21,69 Proz. Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginn der Versuche: 22573. Wassergehalt des Lehmbodens bei dieser Zählung: 15,09 Proz.

Prozente der vollen Wasserkapazität des Bodens	Wassergehalt des Bodens in %	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens bei der Untersuchung am 11. September 1907 (Aussaatstärke pro Platte 5 mg Boden)	Relative Zahlen
30	6,51	20429	99,5
50	10,85	13280	64,7
65	14,10	15781	76,9
80	17,35	20528	100
100	21,69	27498	134

Tabelle 35 vom 10. Juli 1907.

Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Sporenzahl.

$^2/_3$ Lehmboden, $^1/_3$ Sand. Volle Wasserkapazität dieses Bodengemisches: 17,96 Proz. Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens beim Beginn der Versuche: 8411. Wassergehalt des Bodengemisches bei dieser Zählung: 11,32 Proz.

Prozente der vollen Wasserkapazität	Wassergehalt des Bodens in %	1. Untersuchung am 17. Juli 1907		2. Untersuchung am 28. August 1907	
		Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens (Aussaatstärke pro Platte 10 mg Boden)	Relative Zahlen	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens (Aussaatstärke pro Platte 10 mg Boden)	Relative Zahlen
30	5,39	7919	85,3	11204	102,5
50	8,98	8196	88,3	11683	106,9
80	14,37	9282	100	10931	100

Tabelle 36.

Periodische Bestimmungen der Sporenzahl.

Parzelle 15 des Versuchsfeldes.

Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Aussaatstärke pro Platte in mg Boden	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens, ausgedrückt in relativen Zahlen	Bakterienzahl in 1 g trockenen Bodens, ausgedrückt in relativen Zahlen
1907					
5. Juli	17,57	40	808	100	100
20. „	14,25	50	980	121,3	148,2
2. August	18,49	50	519	64,2	90,4
13. „	16,98	50	775	95,9	52,2
22. „	19,32	50	933	115,5	101,7
2. Sept.	19,17	50	1146	141,8	113,7
15. „	21,08	40	1795	222,3	145,5
2. Oktober	17,49	50	1361	168,4	160,2
14. „	18,33	50	1555	192,5	87,5
1908					
9. Januar	22,73	50	776	96,0	117,0

Tabelle 37.

Periodische Bestimmungen der Sporenzahl.

Parzelle 21 des Versuchsfeldes.

Datum der Untersuchung	Wassergehalt des Bodens in %	Aussaatstärke pro Platte in mg Boden	Sporenzahl in 1 g trockenen Bodens	Sporenzahl pro 1 g trockenen Bodens in relativen Werten	Bakterienzahl pro 1 g trockenen Bodens in relativen Werten
1907					
5. Juli	19,13	40	1162	100	100
20. „	17,73	50	1138	97,9	127,8
2. August	20,28	50	1409	121,3	70,3
13. „	17,07	50	1459	125,6	69,2
22. „	20,59	50	1582	136,1	106,2
2. Sept.	20,14	50	1933	166,4	130,4
15. „	19,84	50	2338	201,3	345,7
27. „	18,16	50	1901	163,6	
1. Oktober	17,81	50	1942	167,1	194,6
14. „	18,99	50	1867	160,7	102,9

Tabelle 38 vom 25. Februar 1908.

Einfluß von Rohrzucker auf die Sporenzahl.

Lehmboden; Wassergehalt desselben: 17,35 Proz. Sporenzahl in 1 g Boden (berechnet auf Boden mit 17,35 Proz. Wasser) beim Beginn der Versuche 1646.

Aussaatstärke pro Platte in mg Boden	Datum der Untersuchung	Zugesetzt auf 100 g Boden Gramm Rohrzucker	Zahl der $^1/_2$-stündig. Erhitzen überdauernden Sporen in 1 g Boden	Relative Zahlen
		Teller No. I und II		
	1908			
40	6. März	0	1796	100
40	6. „	2	1265	70,4
40	18. „	0	1148	100
40	18. „	2	432	37,6
		Teller No. III und IV		
40	9. März	0	1955	100
40	9. „	2	1120	57,3
40	20. „	0	1240	100
40	20. „	2	868	70
50	23. „	0	1008	100
50	23. „	2	872	86,5
		5 Minuten langes Erhitzen bei 100° C ertrugen:		
50	23. März	0	5900	100
50	23. „	2	4270	72,2

Tabelle 39 vom 25. Februar 1908.

Versuche nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode über die Zahl der stickstoffbindenden Bakterien (Azotobacter) im Boden, und zwar in:

1) Boden ohne Zusatz.
2) Boden mit einem Zusatz von 2 Proz. Rohrzucker.
3) Boden mit einem Zusatz von 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.

Beginn der Versuche am 26. März 1908; Versuche abgeschlossen am 5. April.
Nährlösung: 1-proz. Mannitlösung. 10 Parallelröhrchen.
+ Entwickelung von Azotobacter; 0 kein Wachstum.

	Impfmenge Boden pro Röhrchen in mg	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
1) Boden ohne Zusatz	$^1/_2$	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0
	$^1/_4$	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	$^1/_{10}$	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
2) Boden mit 2 Proz. Rohrzucker	$^1/_2$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$^1/_4$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$^1/_{10}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3) Boden mit 0,1 Proz. Ammoniak-N	$^1/_2$	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0
	$^1/_4$	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	$^1/_{10}$	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 40 vom 25. Februar 1908.

Versuche nach Remys Methode: Stickstoffbindung.
Stickstoffbindung in Mannitlösung (mit 1 Proz. Mannit):
1) **durch Boden ohne Zusatz.**
2) **durch Boden mit 2 Proz. Rohrzucker.**
3) **durch Boden mit 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.**
Pro Kolben 100 ccm Lösung.
Der Versuch wurde angesetzt am 27. März 1908, abgebrochen am 27. April.

	Analyse beim Beginn der Versuche		Analyse am Schlusse der Versuche		N-Zunahme pro Kolben im Mittel mg
	Gesamt-N pro Kolben in mg	Mittel	Gesamt-N pro Kolben in mg	Mittel	
1) Boden ohne Zusatz	10,84	10,70	20,74	21,81	11,11
	10,45		22,20		
	10,80		22,49		
2) Boden mit 2 Proz. Rohrzucker	10,76	11,93	18,93	19,66	7,73
	12,36		20,06		
	12,28		19,94		
	12,32		19,72		
3) Boden mit 0,1 Proz. Ammoniak-N	18,21	18,34	21,13	20,41	2,07
	18,41		20,28		
	18,52		21,19		
	18,21		19,04		

Tabelle 41 vom 25. Februar 1908.

Versuche nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode über die Zahl der nitrifizierenden Bakterien im Boden, und zwar in:
1) Boden ohne Zusatz.
2) Boden mit einem Zusatze von 2 Proz. Rohrzucker.
3) Boden mit einem Zusatze von 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.
Nährlösung: Omelianski-Lösung (aber mit 1-prom. $(NH_4)_2SO_4$).
6 Parallelröhrchen. Prüfung auf Stickstoffsäuren mit Diphenylamin-Schwefelsäure.
Es bedeutet: + Reaktion; 0 keine Reaktion.

Beginn der Versuche am 26. März 1908. Bei der ersten nach 10 Tagen vorgenommenen Untersuchung ergab sich folgendes:

	Impfmenge pro Röhrchen	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1) Boden ohne Zusatz	$^1/_2$ g	+	+	+	+	+	+
	50 mg	+	+	+	+	+	+
	10 „	+	+	+	+	+	+
	1 „	+	+	+	+	0	0
	$^1/_{10}$ „	0	0	0	0	0	0
2) Boden mit 2 Proz. Rohrzucker	$^1/_2$ g	0	0	0	0	0	0
	50 mg	0	0	0	0	0	0
	10 „	0	0	0	0	0	0
	1 „	0	0	0	0	0	0
	$^1/_{10}$ „	0	0	0	0	0	0
3) Boden mit 0,1 Proz. Ammoniak-N	$^1/_2$ g	+	+	+	+	+	+
	50 mg	+	+	+	+	+	+
	10 „	+	+	+	+	+	+
	1 „	+	+	+	0	0	0
	$^1/_{10}$ „	+	0	0	0	0	0

Bei der zweiten, 4 Wochen nach dem Beimpfen der Lösungen ausgeführten Untersuchung zeigten sämtliche mit dem Rohrzuckerboden beschickten Röhrchen, ebenso wie alle anderen Diphenylaminreaktion.

Tabelle 42 vom 25. Februar 1908.

Versuche nach Remys Methode: Nitrifikation.

Nitrifikation in Omelianski-Lösung (1 Prom. $(NH_4)_2SO_4$)

1) durch Boden ohne Zusatz,
2) durch Boden mit einem Zusatz von 2 Proz. Rohrzucker,
3) durch Boden mit einem Zusatz von 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.

Pro Kolben 50 ccm Omelianski-Lösung.

Die Versuche wurden angesetzt am 27. März 1908, abgebrochen am 27. April. Nitratbestimmung durch Reduktion in alkalischer Lösung mit Eisen und Zink.

	Analyse beim Beginn der Versuche		Analyse am Schlusse der Versuche		Pro Kolben gebildetes Nitrat in mg Nitrat-N
	Nitrat-N pro Kolben in mg	Mittel	Nitrat-N pro Kolben in mg	Mittel	
1) Boden ohne Zusatz	0,04 0,27 0	0,10	2,32 2,15 1,24 1,58	1,82	1,72
2) Boden mit 2 Proz. Rohrzucker	0 0 0	0	0,51 0,62 0,28 1,13	0,61	0,61
3) Boden mit 0,1 Proz. Ammoniak-N	1,05 0,86 0,82	0,91	5,60 5,21 8,19 8,14	6,78	5,87

Tabelle 43 vom 21. Mai 1908.

Versuche nach der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode über die Zahl der peptonzersetzenden Bakterien im Boden,

und zwar in:

1) Boden ohne Zusatz,
2) Boden mit einem Zusatze von 2 Proz. Rohrzucker,
3) Boden mit einem Zusatze von 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.

Nährlösung: Lösung von 1 Proz. Pepton in Leitungswasser. Je 10 Parallelröhrchen.

Beginn der Versuche am 23. Juni 1908; Schluß derselben am 3. Juli 1908. Am Schlusse der Versuche Kontrolle auf Bakterienentwickelung.

	Impfmenge pro Röhrchen in mg Boden	Zahl der Röhrchen mit Bakterienentwickelg.	Bakterienzahl in 1 g Boden in Millionen
1) Boden ohne Zusatz	$^1/_{1000}$	10	
	$^1/_{10000}$	5	5
	$^1/_{100000}$	2	20
2) Boden mit einem Zusatz von 2 % Rohrzucker	$^1/_{1000}$	10	
	$^1/_{10000}$	10	
	$^1/_{100000}$	7	70
3) Boden mit 0,1 % N als $(NH_4)_2SO_4$	$^1/_{1000}$	10	
	$^1/_{10000}$	5	5
	$^1/_{100000}$	3	30

Tabelle 44 vom 21. Mai 1908.

Versuche nach Remys Methode: Peptonzersetzung.

Peptonzersetzung in einer Lösung von Pepton (1-proz.) in Leitungswasser:
1) durch Boden ohne Zusatz,
2) durch Boden mit 2 Proz. Rohrzucker,
3) durch Boden mit 0,1 Proz. N als Ammoniumsulfat.

Pro Kolben 100 ccm Peptonlösung. Gesamt-N pro Kolben 139,9 mg.

Der Versuch wurde angesetzt am 25. Juni 1908, abgebrochen am 30. Juni.

	Analyse beim Beginn der Versuche		Analyse am Schlusse der Versuche		Pro Kolben gebildeter Ammoniak-N in mg
	Ammoniak-N pro Kolben in mg	Mittel	Ammoniak-N pro Kolben in mg	Mittel	
1) Boden ohne Zusatz	2,26 1,95 1,90	2,04	88,42 87,74 86,50 87,80	87,62	85,58
2) Boden mit 2 Proz. Rohrzucker	0,67 1,64 1,44 1,33	1,27	90,68 92,55 90,85 92,91	91,75	90,48
3) Boden mit einem Zusatz von 0,1 % N	2,21 1,95 1,59	1,92	91,81 91,98 92,32 92,89	92,25	90,33

Nachdruck verboten.

Coniothecium arachideum, ein neuer auf Erdnüssen vorkommender Pilz.

Von **R. Lucks**, bot. Assist. a. d. landw. Versuchsstation zu Danzig.

Mit 3 Tafeln.

In den letzten Jahren mehren sich die Klagen über Schwierigkeiten, die sich bei der Verfütterung von Erdnußkuchenmehl ergeben. Die Tiere nehmen entweder das Futter nur ungern an, oder verweigern es gänzlich, oder es treten nach dem Genusse desselben oft bedenkliche Verdauungs- und andere Störungen auf, die darauf hindeuten, daß das verfütterte Erdnußmehl nicht einwandfrei ist. Beachtenswert ist dabei der Umstand, daß derartige Erscheinungen nicht nur dort zum Vorschein kommen, wo überhaupt zum erstenmal mit der Verfütterung von Erdnußmehl begonnen wird, sondern in vielen Fällen auch nach Neubestellungen, wo vorher die Kuchen anstandslos angenommen und gut vertragen wurden.

Nachdem man längere Zeit vergeblich den Ursachen nachgegangen ist, wurde wenigstens teilweise Klarheit geschafft, indem festgestellt wurde, daß öfters im Handel Erdnußmehle angetroffen werden, die mehr oder minder große Mengen von Ricinusrückständen enthalten, wodurch nicht nur die Verweigerung der Annahme des Futters, sondern auch bei seiner Aufnahme die nachfolgende Erkrankung der Tiere verständlich wird. Der Nachweis derartiger Beimengungen wird allerdings oft erschwert, einerseits durch die häufig nur geringe Menge der Ricinusrückstände, andererseits dadurch, daß nur entschälte Ricinussamen Verwendung finden.

Das Vorhandensein von Ricinusbestandteilen könnte als genügende Erklärung für die spezifische Wirkung der betreffenden Kuchenmehle gelten, wenn es in allen in Frage kommenden Fällen nachgewiesen worden wäre. Dem ist aber nicht so. Wenn auch geringfügige Ricinusmengen sich bisweilen selbst dem Auge geübter Mikroskopiker entzogen haben mögen, so kann doch andererseits nicht in Abrede gestellt werden, daß manchmal auch solche Erdnußmehle die genannten Wirkungen äußern, die nach vorgenommener genauer mikroskopischer Untersuchung sich als vollkommen frei von Ricinus erweisen. Demnach ist anzunehmen, daß für die durch Erdnußmehle hervorgerufenen Erscheinungen noch andere Ursachen in Frage kommen, und man hat schon früher sein Augenmerk auf das Vorhandensein von Schimmel- und Spaltpilzen gerichtet, ohne indessen zu einem endgültigen Resultate gelangt zu sein. Daß durch derartige niedere Organismen schädliche Wirkungen verursacht werden können, ist ja hinreichend bekannt, und das Auftreten von ihnen in einer von den normalen Verhältnissen abweichenden Form und Menge gibt genügend Anlaß, sich mit ihnen eingehender zu beschäftigen.

Bei der Untersuchung eines Erdnußkuchenmehles, bei dessen Verfütterung sich die eingangs erwähnten bedenklichen Erscheinungen geltend gemacht hatten, stieß ich auf gewisse pilzliche Bildungen, über deren Artangehörigkeit ich in der mir zugänglichen Literatur nichts vorfinden konnte. Um über ihr Auftreten bei Erdnußmehlen Genaueres zu erfahren, wurde eine Anzahl älterer Proben einer nochmaligen eingehenden Untersuchung unterzogen und auch den neueingehenden Proben nach dieser Richtung hin besondere Aufmerksamkeit zugewandt. Dabei stellte sich heraus, daß dieselben Pilzbildungen in wechselnden Mengen sich häufig vorfanden und nur selten in einem Mehle völlig fehlten. In der Folge kamen dann auch einige Mehle mit der spezifischen ungünstigen Wirkung beim Verfüttern zur Untersuchung, welche die fraglichen Pilzbildungen in erheblichem Maße aufwiesen, und es war der Verdacht nicht von der Hand zu weisen, daß diese in Beziehung zu der eigenartigen Wirkung der betreffenden Mehle stehen möchten. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Schmöger habe ich mich eingehender mit diesen Pilzbildungen beschäftigt, worüber im Nachstehenden berichtet werden soll.

Es ist zunächst auffallend, daß der fragliche Pilz, den ich Coniothecium arachideum benannt habe, sich solange der Aufmerksamkeit entziehen konnte, trotzdem mehrfach Untersuchungen in bezug auf das Vorhandensein von Pilzen in Erdnußmehlen vorgenommen worden sind. Es sei hier nur auf diejenigen von Prof. Dr. Holdefleiss (Der Landwirt. 1883. No. 27) hingewiesen. Aber weder hier, noch bei anderen diesbezüglichen Untersuchungen findet der von mir aufgefundene Pilz Erwähnung. Eine befriedigende Erklärung hierfür ist nur in dem Umstand zu erblicken, daß derselbe in auffälliger Menge in der Regel nur an Hülsenteilen anzutreffen ist, so daß die Wahrscheinlichkeit seiner Beobachtung in dem Maße sinkt, als der Hülsengehalt heruntergeht, sowie darin, daß bei den gewöhnlichen Kulturmethoden der Pilz nicht zur Ausbildung gelangt.

Neuerdings scheint man auch bereits anderweitig auf ihn und seine eventuelle diätetische Bedeutung aufmerksam geworden zu sein, wie aus kurzen Bemerkungen in der Literatur hervorgeht, die im Zusammenhange mit der Besprechung schädlicher resp. giftiger Erdnußmehle über ein bräunliches oder schwarzes Pilzmycel, welches in den verdächtigen Mehlen beobachtet wurde, gemacht wurden, so von Prof. Dr. O. Kellner und Dr. F. Barnstein[1]), sowie von Prof. Dr. Müller-Halle in dem Jahresbericht der Versuchsstation Halle vom Jahre 1907, wo gesagt wird, daß man dort schon vor zwei Jahren auf einen derartigen Pilz aufmerksam geworden ist, daß es aber bisher nicht gelang, ihn in Reinkultur zu züchten. Ich gehe in der Annahme wohl nicht fehl, daß es sich hier gleichfalls um Con. arachideum handelt.

Auch mir gelang es anfänglich nicht, den Pilz in Reinkultur zu erhalten oder ihn überhaupt zum Wachstum zu bringen. Ich war infolgedessen zunächst der Meinung, daß er bei der Gewinnung der Kuchen infolge der angewandten erhöhten Temperatur abgetötet oder doch derartig alteriert wurde, daß er nicht mehr wachstumsfähig sei. Sein später von mir beobachtetes Verhalten in unreinen Kulturen hat mich indessen zu der Ueberzeugung geführt, daß die Ursache des Mißlingens seiner Kultur vielmehr in der Konkurrenz der verschiedenen Schimmel- und Spaltpilze zu suchen sei, gegen deren Auftreten Con. arachideum sehr empfindlich zu sein scheint.

Ich mußte daher versuchen, auf einem anderen Wege zum Ziele zu gelangen. In der vorliegenden Form zeigte der Pilz keine der gewöhnlichen Fruchtformen, die für die Verbreitung in Frage kommen, es waren nur kleine, sklerotienartige Mycelwucherungen vorhanden, wie sie als Chlamydosporen und Coniothecien beispielsweise bei den Rußtaupilzen vorkommen, und deren Aufgabe es ist, mit oder ohne anderweitige Fruchtformen die Erhaltung und Verbreitung der betreffenden Pilze zu besorgen. Ich schloß daraus, daß die Verbreitung des Pilzes nicht durch Sporen oder Konidien, die der Wind usw. verweht, geschieht, sondern durch die Erdnüsse selbst besorgt wird, und zwar derart, daß nach der Aussaat der Nüsse, die in den Hülsen vorhandenen Coniothecien usw. zum Auswachsen kommen und ein Mycel erzeugen, das sich saprophytisch so lange in der Erde ernährt, bis die sich neu bildenden und in die Erde eindringenden Früchte Gelegenheit zur Neuinfektion bieten. War diese Schlußfolgerung richtig, dann mußte es möglich sein, unter ähnlichen Bedingungen die Coniothecien auch künstlich zum Auswachsen zu bringen und von ihnen Reinkulturen zu erlangen. Um dabei möglichst Fremdinfektionen auszuschalten und den Verlauf des Prozesses leicht übersehen zu können, wurde allerdings von einer Verwendung von Erde abgesehen. Ich führte zunächst eine Vorprüfung aus, um die Lebensfähigkeit der Coniothecien und Chlamydosporen festzustellen. Der Versuch gelang überaus leicht und führte zu einem positiven Ergebnis. Ein von sonstigen Bestandteilen der Erdnuß freies Hülsenstückchen, an dem mit der Lupe die schwärzlichen, der Innenseite eingelagerten Choniothecien zu erkennen waren, wurde in eine feuchte Kammer gelegt. Als solche benutzte ich eine gewöhnliche Petri-Schale, deren Boden mit einer mehrfachen Lage Filtrierpapier bedeckt war, das mit Leitungswasser getränkt wurde. Von einer Verwendung steriler Geräte wurde zunächst abgesehen, um den natürlichen Verhältnissen möglichst nahezukommen. Mit Rücksicht auf den Umstand, daß die Erdnüsse nur in wärmeren Klimaten gedeihen, wurde die beschickte Petri-Schale in den Brutschrank gestellt und bei 37° C gehalten. Letztere Temperatur wurde nur deswegen gewählt, weil der benutzte Brutschrank hierauf reguliert war. Es sei hier gleich bemerkt, daß Versuche zur Feststellung der optimalen Temperatur nicht angestellt wurden. Die Beantwortung dieser Frage lag außer dem Bereiche unseres Interesses. Ein Ueberwuchern anderer Pilze bei dem vorliegenden Versuche war wohl von vornherein nicht zu befürchten, einmal weil Con. arachideum augenscheinlich in einer Form vorhanden war, die ein schnelles Wachstum ermöglichte, und zum anderen, weil die holzige Fruchtschale und die Filtrierpapierunterlage nicht den außerordentlich günstigen Nährboden für andere Pilze bildete, wie das nährstoffreiche Erdnußmehl.

---

[1]) Ueber giftiges Erdnußmehl (Deutsche landw. Presse. 1908. p. 407.)

Bereits nach 24-stündigem Verweilen im Brutschranke zeigte es sich, daß der in der Erdnußhülse sitzende Pilz noch lebensfähig war. Die Coniothecien erschienen als glänzend schwarze Knötchen wenig über die Oberfläche der Hülse gehoben und Andeutungen von frischgewachsenem Mycel waren vorhanden. Nach weiteren 24 Stunden hatte ein feines weißes Mycel die ganze Innenseite der Fruchtschale überzogen, war über den Rand gewachsen und bedeckte in ziemlicher Ausdehnung die Papierunterlage. In diesem Mycel hatten sich auch bereits zahlreiche Coniothecien neu gebildet, die zwar durchschnittlich kleiner waren als die ursprünglichen, was ja auch bei der spärlichen Ernährung erklärlich ist, aber im übrigen sich zu dem fraglichen Pilz gehörig erwiesen.

Nach diesem so leicht gelungenen Vorversuche schien die Weiterzucht und Reinkultur keine Schwierigkeit mehr zu bereiten. Es wurden auf die übliche Weise kleine Mycelstückchen auf verschiedene Nährböden, wie: Kartoffeln, Brot, Erdnußmehl, Agar und Gelatine, die beiden letzten in saurer und alkalischer Form, übergeimpft und das Wachstum und sonstige Verhalten des Pilzes beobachtet. Auf diese Untersuchung komme ich weiter unten zurück; hier möchte ich zunächst einiges über sein Auftreten an der Erdnuß, sein hier zu beobachtendes Aussehen und seine systematische Zugehörigkeit anführen.

Wie bereits erwähnt, findet man den Pilz in der Regel in der Fruchtschale, nur selten scheint er auf den Samenkern überzugehen. Was dabei am ersten in die Augen fällt, sind die eigentümlich gestalteten, dunkel gefärbten Coniothecien, rundliche bis ovale, oft auch ziemlich unregelmäßig gestaltete Zellhaufen, von 70—120 μ Länge und 50—80 μ Breite. Sie stehen oft vereinzelt, meist jedoch in ziemlich geringer Entfernung voneinander in großer Zahl beieinander (Fig. 1), sind von dunkelbrauner bis schwärzlicher Farbe, meist völlig undurchsichtig und lassen daher nur wenig von ihrem Aufbau erkennen. Nur an jüngeren Studien, die noch weniger gefärbt sind, vor allem aber beim Studium der Entwickelung, sowie an Querschnitten kann man sich genügend orientieren. Bei stärkerer Vergrößerung sieht man dann, daß von den Coniothecien einzelne Mycelfäden ausgehen, durch welche sie teilweise miteinander in Verbindung stehen (Fig. 4). Die Mycelfäden sind anfänglich breit, kurzzellig und dunkel gefärbt. Mit ihrer Entfernung von den Coniothecien werden sie schmaler, langzelliger und farblos. Die vom Pilze befallenen Erdnüsse unterscheiden sich äußerlich kaum von den gesunden. Um das Vorhandensein des Pilzes zu erkennen, ist man daher genötigt, die Hülsen aufzuschneiden, denn soweit ich bisher gefunden habe, werden die Coniothecien vorzugsweise an deren Innenseite gebildet, wenigstens sitzen sie hier am häufigsten. Die Innenseite der Hülse erscheint, wenn die Coniothecien zahlreich vorhanden sind, fein und ziemlich dicht schwarz punktiert. Bisweilen ist allerdings die ganze

Innenseite schwärzlich oder bräunlich-schwarz gefärbt, doch diese Färbung rührt nicht vom Pilze her, sondern kommt auch an solchen Früchten vor, die frei davon sind. Andererseits habe ich vielfach ganz helle Hülsen gefunden, die dicht mit Coniothecien bedeckt waren, so daß letztere schon mit dem bloßen Auge leicht auf dem hellen Grunde zu erkennen waren. Auf der Außenseite der Hülse habe ich nur selten und dann sehr vereinzelt Coniothecien feststellen können. Neben ausgebildeten Coniothecien kommen auch Chlamydosporen und Torula-Formen vor. Bisweilen ist die Schaleninnenseite mit weißem spärlichen Mycel überzogen, während es in der Schale selbst reichlich vorhanden, meistens jedoch schwer sichtbar ist.

Auf den eigentlichen Samenkern scheint der Pilz nur selten überzugehen. Gegebenenfalls findet man dann in der rötlich-braunen Samenschale die Coniothecien als schwarze Pünktchen vor. Hin und wieder tritt er aber auch hier sehr stark auf, so daß dann die Coniothecien hier ebenfalls sehr dicht stehen. Auch der Samenkern wird dann angegriffen. Mit Vorliebe schiebt sich das Mycel in den Spalt zwischen den beiden Kotyledonen und erzeugt auch an dieser Stelle seine charakteristische Fruchtform. Bei besonders starkem Auftreten wird der ganze Samenkern zerstört, wobei er ein graugrünes Aussehen annimmt.

Was nun die systematische Stellung unseres Pilzes anlangt, so ist dieselbe zweifelhaft, da eine genaue Bestimmung bei dem Mangel an den dazu erforderlichen Fruchtformen nicht möglich ist. In mancher Beziehung erinnert er an die Rußtauarten. Herr Prof. Dr. Lindau-Berlin, dem der Pilz zur Bestimmung vorgelegen hat und dem ich auch an dieser Stelle für seine Bemühungen danke, schlägt vor, ihn bis auf weiteres der Gattung Coniothecium einzureihen. Da er, wie es scheint, auf die Früchte der Erdnuß (Arachis hypogaea) lokalisiert ist, so habe ich ihn als Coniothecium arachideum bezeichnet. Ob seine genaue Einreihung einmal möglich sein wird, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Jedenfalls hat er bei seiner mehr als halbjährigen Kultur keinerlei Versuch zur Ausbildung anderweiter Fruchtformen gemacht.

Nach den bisherigen Erfahrungen scheint Con. arachideum in den Anbaugebieten der Erdnuß verbreitet zu sein. Bei der scharfen Kontrolle, die ich seit dem Auffinden desselben bei der Untersuchung von Erdnußmehlen ausübe, ist mir nur selten eins unter die Hände gekommen, das völlig frei von dem Pilze war, wo ich also keine Coniothecien, die für eine schnelle Feststellung in erster Linie in Frage kommen, gefunden habe. Ich habe aber auch versucht, die Verbreitung des Pilzes direkt festzustellen, und zwar unter Benutzung von Erdnüssen verschiedener, bestimmt bekannter Provenienz. Zu diesem Zwecke wurde mir durch freundliche Vermittelung des Herrn Dr. Eckleben-Danzig, dem ich mich dadurch zu großem Danke verflichtet fühle, von der westafrikanischen Pflanzungsgesellschaft eine Anzahl Erdnußproben zur Verfügung gestellt, an denen ich meine Untersuchungen vornehmen konnte. Die Proben stammten aus folgenden Gebieten: 1) Bissao, 2) Casamanca, 3) Rufisque, 4) Rangoon, 5) Java, 6) Spanien. Außerdem erhielt ich von einem hiesigen Händler eine Probe angeblich südamerikanischer Provenienz. Die Untersuchung ergab folgendes:

1) Erdnüsse aus Bissao. Die Früchte waren zum Teil unverletzt, zum Teil zeigten sie geringere oder gröbere Beschädigungen. Bei einer Anzahl Früchte war die äußere Schalenschicht mehr oder weniger abgeschabt, so daß die genetzte Mittelschicht zutage trat. Derartige

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Früchte waren meist mißfarbig und erwiesen sich größtenteils vom Pilze stark besetzt.

Es muß hierbei erwähnt werden, daß infolge eines Mißverständnisses bei der Auswahl dieser und der nächsten beiden Proben viele verletzte Früchte ausgesucht wurden. Das Vorhandensein des Pilzes wurde zunächst mit Hilfe der Lupe, sodann aber durch Auswachsen im Brutschrank festgestellt. Ob und wieweit auch scheinbar gesunde Nüsse infiziert waren, wurde nicht weiter geprüft.

2) Erdnüsse aus Casamanca. Die äußere Beschaffenheit der Nüsse war ähnlich wie bei den Bissaonüssen. Der Pilz trat aber hier nicht in dem Umfange auf. Dagegen fanden sich in einer scheinbar gesunden Nuß zwei Kerne vor, die sehr stark vom Pilze zerstört und ganz verdorben waren. Selbstverständlich fand sich in diesem Falle der Pilz auch in der Fruchtschale vor.

3) Erdnüsse aus Rufisque. Der äußere Befund war ähnlich wie bei 1 und 2. Die innere Untersuchung zeigte starken Befall durch Con. arachideum. Im welchem prozentualen Verhältnis gesunde und kranke Nüsse zueinander stehen, wurde nicht weiter untersucht.

4) Erdnüsse aus Rangoon. Die Früchte zeigten sich äußerlich etwa zur Hälfte unbeschädigt, zur Hälfte verletzt, mißfarbig mit fehlender Außenschicht. Innerlich schienen die ersteren ausnahmslos gesund zu sein, die letzteren waren fast ohne Ausnahme krank.

5) Erdnüsse aus Java. Hiervon war nur wenig Material vorhanden, im ganzen 3 ganze und 3 halbe Früchte. Dieselben waren dickschalig, von anhaftender dünner Erdschicht gelbbräunlich gefärbt und abgesehen von den mechanischen Verletzungen augenscheinlich gesund. Die Kultur von Schalenstücken in der feuchten Kammer erwies jedoch das Vorhandensein des Pilzes.

6) Erdnüsse aus Spanien. Es waren große, dickschalige Früchte, die mit Ausnahme geringer mechanischer Verletzungen gesund waren. Auch durch Kultur konnte hier der Pilz nicht festgestellt werden.

7) Erdnüsse angeblich aus Südamerika. Die Nüsse machten äußerlich einen guten, gesunden Eindruck, innerlich konnte jedoch bei vielen ein mehr oder weniger starkes Auftreten des Pilzes beobachtet werden. Selbst mehrere Kerne erwiesen sich als krank resp. durch den Pilz verdorben.

Nach dem vorstehenden Befund zu urteilen, scheint Con. arachideum in Asien, Afrika und eventuell auch in Amerika verbreitet zu sein; ob er in Europa tatsächlich fehlt, muß erst auf Grund weiterer Untersuchungen sichergestellt werden, da nach dem Befund an nur einer, dazu ziemlich kleinen Probe ein solcher Schluß nicht gerechtfertigt ist.

Veränderungen, die darauf schließen lassen, daß der Pilz für die befallenen Früchte einen parasitären Charakter besitzt — also das gesunde Gewebe des Samens angreift und zerstört — konnten nur selten wahrgenommen werden. In allen Fällen, wo er nur die Fruchtschale oder Samenhaut besiedelt hatte, waren überhaupt keine Erscheinungen, die hierfür sprechen, vorhanden. Nur dort, wo er auf die Kotyledonen übergegangen war, zeigte sich eine schädliche Einwirkung, die bis zur völligen Zerstörung der Samen führen kann. Ob dieselbe aber durch den Pilz überhaupt resp. durch diesen allein verursacht worden ist, oder ob er hier sekundär aufgetreten ist, konnte an derartigen Früchten nicht entschieden werden. Aus seinem bereits erwähnten Verhalten anderen Pilzen gegenüber muß allerdings ersteres angenommen werden, denn jeder Versuch, aus solchen Früchten Con. arachideum zu kultivieren, schlug völlig fehl, während andere Pilze, deren Keime in dem durch Coniothecium zerstörten Samen vorhanden waren und in sie erst sekundär gelangt sein mußten, sehr leicht angingen. Zu demselben Resultat kommt man auch, wenn man sich den Gang der Infektion — wie ich ihn mir denke — vergegenwärtigt: Der Pilz gelangt von außen an die Frucht und durchwuchert die Hülse, an deren Innenseite er Coniothecien sowie Luftmycel erzeugt. Letzteres kommt mit der Samenhaut in innige Berührung, in die es gelegentlich hineinwuchert, um in einzelnen Fällen auch das Kotyledonargewebe anzugreifen. Dieses letztere Verhalten spricht allerdings für einen partiell parasitären Charakter des Pilzes. Im übrigen scheint er sich mehr saprophytisch zu ernähren. Ich bin der Meinung, daß er relativ spät auf die Fruchtschale der Erdnüsse übergeht, vielleicht zu einer Zeit, wo das Gewebe bereits ausgereift resp. abgestorben ist. Vorher vegetiert der Pilz im Erdboden, wo er bei den dort vorhandenen und für andere in Frage kommende Schimmel- und Spaltpilze wenig günstigen Ernährungsbedingungen unter der Konkurrenz derselben nur wenig zu leiden hat. Bei Ausschaltung dieser Konkurrenz, also bei künstlichen Reinkulturen, vermag er sich dann auf den gebräuchlichen nährstoffreichen Nährböden kräftig zu entwickeln.

Es sei hier noch kurz auf die Veränderungen eingegangen, welchen die gebotenen Nährstoffe unter Einwirkung des Pilzes unterliegen. Da er in Reinkulturen mit Ausnahme der Gelatine auf allen geprüften Nährböden, wie Agar, Brot, Kartoffeln, Erdnußmehl aus Erdnüssen, von mir selbst bereitet, vorzüglich gedeiht, so scheint er keine besonderen Ansprüche zu machen. Für sein etwas abweichendes Verhalten der Gelatine gegenüber kann ich keine volle Erklärung geben. Ich vermute, daß es der hohe Eiweißgehalt einerseits, der mangelnde Gehalt an Kohlenhydraten andererseits ist, welche letztere Stoffe er zu bevorzugen scheint. Einen etwas tieferen Einblick in diese Verhältnisse gewährt ein Versuch, der gemacht wurde, um die Einwirkung auf die wichtigsten Bestandteile der Erdnuß, nämlich auf Protein und Fett, kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurde eine größere Portion gesunder, enthülster Erdnüsse gemahlen. In dem Mehle wurde der Gehalt an Wasser, Roh- und Reinprotein, sowie an Fett und freien Fettsäuren bestimmt (vgl. die folgende Tabelle I).

(Siehe Tabelle I p. 649.)

Von dem Mehle wurden dann je 5 g genau abgewogen, in Petri-Schalen mit Fließpapierunterlage dünn ausgebreitet, mit ca. 5 ccm Wasser versetzt und im Autoklaven in strömendem Wasserdampf $^1/_2$ Stunde sterilisiert. Die Unterlage von Fließpapier wurde gewählt, um eine gleichmäßige Verteilung der Feuchtigkeit zu erreichen. Der hohe Wasserzusatz von 50 Proz. wurde zur Verhütung eines vorzeitigen Austrocknens der Schalen angewandt. Die Schalen wurden in einem dicht schließenden Schranke untergebracht. Die hohe Wassermenge wirkte in keiner Weise schädigend auf das Wachstum des Pilzes ein. Die sterilen Platten wurden mit frisch gezüchtetem Pilzmaterial geimpft und zunächst 48 Stunden in den Brutschrank (37 °) gestellt. Während dieser Zeit war das Mycel über die ganzen Platten hinweggewachsen und reichlich Luftmycel gebildet, das den freien Raum in den Schalen etwa zur Hälfte ausfüllte. Dann wurden die Platten bei gewöhnlicher Temperatur (ca. 20 °) ge-

Tabelle I.

Datum der Untersuchung	10. Nov. 1908	31. Dez. 1908	2. Jan. 1909	4. Jan. 1909	6. Jan. 1909	9. Jan. 1909	11. Jan. 1809	13. Jan. 1909	19. Jan. 1909	25. Jan. 1909	29. Jan. 1909
Auf die angewandten 5 g Substanz bezogen, wurde gefunden:											
Rohprotein Proz.	28,7	—	—	—	27,6	25,05	27,55	26,50	28,03	27,74	27,94
Reinprotein „	28,1	—	—	—	—	—	22,03	—	—	21,60	—
Von 100 Teilen Rohprotein waren verschwunden „	—	—	—	—	3,85	12,74	4,02	7,67	2,35	3,34	2,64
Von 100 Teilen Reinprotein waren verschwunden „	—	—	—	—	—	—	21,60	—	—	23,13	—
Auf die angewandten 5 g Substanz bezogen, wurde gefunden:											
Rohfett Proz.	48,60	48,60	47,20	48,30	44,10	40,54	21,68	23,38	10,18	5,26	3,52
freie Fettsäuren „	0,75	1,65	1,73	3,59	12,98	19,66	9,52	10,63	2,10	0,74	0,31
Die freien Fettsäuren betragen vom Rohfett „	1,56	3,19	3,67	7,43	29,43	48,49	43,91	45,46	20,64	14,06	8,80
Von dem in der angewandten Substanz ursprünglich vorhand. Fett sind verschwund. „	—	—	2,88	0,62	9,26	16,58	55,39	51,89	79,05	89,17	92,76

halten. Von Zeit zu Zeit wurden einzelne Platten zur Bestimmung des vorhandenen Gehaltes an Protein und Fett benutzt. Zu diesem Zwecke wurde das verpilzte Mehl vorsichtig ohne Verlust in eine Extraktionspatrone gebracht, was sich unter Benutzung der Fließpapierunterlage leicht ausführen ließ, und zunächst im Wassertrockenschrank so lange getrocknet, bis alles Wasser entfernt war. Dann wurde die Patrone mit Inhalt in einen Soxhletschen Fettextraktionsapparat auf die übliche Weise mit Aether extrahiert und das extrahierte Fett gewogen. Die freien Fettsäuren wurden mit Natronlauge unter Benutzung von Phenolphtalein als Indikator durch Titration bestimmt, wobei das Fett und die entstehenden Salze durch Hinzufügen von 50 ccm Aetheralkohol in Lösung gehalten wurden. Der Rückstand von der Fettextraktion wurde mitsamt der Patrone nach Kjeldahl verbrannt, um den Gehalt an Rohprotein zu bestimmen. Das Reinprotein wurde in einer anderen Probe nach dem von Barnstein abgeänderten Stutzerschen Verfahren festgestellt. Der Stickstoffgehalt der Fließpapierunterlage und der Patronen wurde vernachlässigt; nachdem durch einen Versuch derselbe als sehr gering gefunden worden war. Die Resultate der vorgenommenen Untersuchungen sind in der vorstehenden Tabelle enthalten. Nur wenige Bemerkungen mögen zur Erläuterung dienen! Der Gehalt an Rohprotein hat — wie dies ja auch sehr erklärlich ist — nur geringe Veränderungen erlitten, die überdies keine Regelmäßigkeit erkennen lassen. Während nach 9 Tagen der höchste Verlust von 12,74 Proz. gefunden wurde, beträgt derselbe nach 19 Tagen (bei einer anderen Probe) nur 2,35 Proz. des Gesamtproteins. Eine wesentlich größere Veränderung ist in dem Gehalt an Reinprotein eingetreten; dasselbe ist (am 11. Tage schon von 28,1 Proz. auf 22,03 Proz., am 25. Tage auf 21,60 Proz.) herabgegangen. Ob hier eine Regelmäßigkeit vorliegt, läßt sich nicht entscheiden, da eine größere Zahl von Bestimmungen nicht vorgenommen werden konnte.

Wesentlich durchsichtiger liegen die Verhältnisse bei dem Fettgehalt des Nährbodens. Hier tritt eine energische fortschreitende Verarbeitung desselben zutage, die einerseits in der immer weitergehenden Abnahme des Gesamtfettes, andererseits in dem Anwachsen der freien Fettsäuren einen präzisen Ausdruck findet. Von den 48,6 Proz. des ursprünglich vorhandenen Fettes sind bei Abschluß der Versuchsreihe nur noch 3,52 Proz. vorhanden und demnach 92,76 Proz. des Gesamtfettes verarbeitet, während die Abnahme aber anfangs, bis zum 9. Tage, nur gering ist und erst 16,58 Proz. des Gesamtfettes beträgt, ist vom 11. Tage ab ein rapides Verschwinden des Fettes zu konstatieren. Die Ursache hierzu liegt wohl in dem Umstande, daß der Pilz in der ersten Zeit sich langsamer ausbreitet und auch die Bildung von Coniothecien noch nicht das Maximum der Geschwindigkeit erreicht hat. Eine besondere Eigentümlichkeit zeigt sich in dem Verhalten der freien Fettsäuren. Es ist hier zunächst ein allmähliches (bis zum 4. Tage), dann ein stärkeres Anwachsen derselben (bis zum 9. Tage) bemerkbar, dann tritt wieder eine allmähliche und schließlich stärker werdende Abnahme derselben ein. Ganz besonders auffallend ist dabei der Umstand, daß die Zunahme bis zu demselben Tage (9.) reicht, bis zu welchem nur eine geringe Fettabnahme vor sich geht.

Offenbar findet hier zunächst in der Hauptsache eine Spaltung des Fettes bei geringem Verbrauch der abgespaltenen Fettsäuren statt, so daß diese sich stark anhäufen; dann aber setzt ein sehr intensiver Verbrauch der Spaltungsprodukte ein, wodurch die nun eintretende Veringerung der Fettsäuren erklärlich wird. Daß die Fette dabei nicht nur veratmet, sondern auch zum Aufbau der Pilzsubstanz resp. von ätherunlöslichen Verbindungen verwendet werden, geht daraus hervor, daß der Verlust an Trockensubstanz durchaus nicht der Menge des verschwundenen Fettes entspricht. In der ursprünglich vorhandenen 5 g Substanz waren 4,687 g Trockensubstanz enthalten. Bei einer am 25. Jan. vorgenommenen Wägung und Wasserbestimmung in einer verpilzten Probe wurden dagegen nur noch 4,089 g Trockensubstanz gefunden. Es waren demnach insgesamt 12,76 Proz. der ursprünglichen Trockensubstanz verloren gegangen.

Von Fett waren in den ursprünglich angewandten 5 g 2,430 g (also 48,60 Proz.) vorhanden. Eine am 25. Jan. 1909 ausgeführte Fettbestimmung in einer verpilzten Probe ergab aber nur noch 0,263 g Fett. Es sind also verschwunden 2,167 g Fett, das sind 89,17 Proz. der ursprünglich vorhandenen Fettmenge und 46,23 Proz. der ursprünglichen Trockensubstanz, während, wie angegeben, der festgestellte Gesamtverlust an Trockensubstanz nur 12,76 Proz. betrug. Es müssen also durch den Pilz von den — auf die ursprüngliche Menge Trockensubstanz bezogen — verloren gegangenen 46,23 Proz. Fett mindestens 33,47 Proz. in andere, ätherunlösliche Substanz umgewandelt worden sein.

Die hier gefundenen Resultate stimmen im allgemeinen gut mit den anderweitig beobachteten Zersetzungen von Futtermitteln unter dem Einflusse von Pilzen überein [1]; es geht aus ihnen hervor, daß die Eiweißsubstanzen nur wenig von Coniothecium arachideum angegriffen werden, daß dagegen das Fett als ausgezeichnete Kohlenstoffquelle ausgebeutet wird.

---

[1] Bremer, W., Die Fett verzehrenden Organismen in Nahrungs- und Futtermitteln. [Inaug.-Dissert.] Würzburg 1902.

Wie bereits erwähnt wurde, ist es bisher nicht gelungen, höhere Fruchtformen unseres Pilzes zu erzielen, weder bei höherer noch bei niederer Temperatur, weder in trockner noch feuchter Umgebung, weder bei reichlicher noch spärlicher Ernährung. Daß solche nach längerer Ruhepause zu erwarten sind, ist wenig wahrscheinlich, weil dann bei der Kultur des Pilzes aus den Erdnußhülsen dieselben wohl hätten auftreten müssen, immer wurde aber nur Mycel entwickelt, das über kurz oder lang, meistens schon nach 3 Tagen mit der Bildung der Nebenfruchtform, den Coniothecien, begann. Nach alledem darf wohl angenommen werden, daß Schlauchfrüchte wohl überhaupt nicht mehr zur Entwickelung gelangen. Seine Erhaltung und Verbreitung wird in genügender Weise durch Chlamydosporen in Form von Coniothecien gesichert.

Im Nachfolgenden soll nunmehr noch über das Verhalten von C. arachideum auf einigen Nährböden, sowie über seine morphologischen Verhältnisse berichtet werden.

Als Ausgangsmaterial diente eine Agarreinkultur, die aus einem Schalenstückchen gewonnen worden war. Von dieser Reinkultur wurden kleine Agarstückchen, die vom Pilze durchwachsen waren, zum Ueberimpfen auf verschiedene Nährböden genommen. Zur Benutzung kamen Kartoffel, Brot, Agar sauer und alkalisch, Traubenzuckeragar, Gelatine, sauer und alkalisch, sowie Mehl aus enthülsten Erdnüssen hergestellt. Ueber das Wachstum auf diesen Nährböden geben die folgenden Notizen Auskunft:

1. Wachstum auf Kartoffeln. Es wurden mehrere Petri-Schalen mit Kartoffelscheiben auf Fließpapierunterlage im Autoklaven sterilisiert, geimpft und 48 Stunden im Thermostaten bei 37° C gehalten, danach standen die Schalen bei gewöhnlicher Temperatur (20° C). Während der beiden Tage waren die Kartoffelscheiben von einem weißen, etwas hochgehenden Mycel in einer Ausdehnung von 5—6 cm überwachsen.

Nach 4 Tagen hatte das Mycel auf die Fließpapierunterlage übergegriffen und sich grauweiß gefärbt. Coniothecienbildung war stark vorhanden, namentlich an der Berührungsstelle von Kartoffel und Fließpapier, woselbst sich ein schwärzlicher Ring gebildet hatte. Kartoffelscheiben und Fließpapier mehr oder weniger rosa gefärbt.

Nach 5 Tagen. Wachstum weiter gegangen, Mycel dunkler geworden. Coniothecien sehr zahlreich vorhanden und erscheinen bei Lupenbetrachtung als dicht stehende schwarze Punkte. Rosafärbung stärker geworden; das Mycel über das Fließpapier bis an den Rand der Schale gewachsen und auch hier zahlreiche Coniothecien tragend. Die Kartoffelscheiben sinken in der Mitte ein.

Nach 6 Tagen: Die Kulturen bieten nichts wesentlich Neues. Die Coniothecienbildung schreitet stark fort, das Mycel wird allmählich dunkler und erhebt sich nicht weiter über den Nährboden (0,5 cm).

Nach 18 Tagen: Mycel graubraun. Coniothecien sehr dicht stehend, Kartoffelscheiben stark eingesunken.

Nach 22 Tagen: Fließpapier durch die Coniothecien und die schwärzlichen Mycelfäden stellenweise schwarz verfärbt. Das Einsinken der Kartoffelscheiben schreitet weiter fort; der Rest besteht fast ausschließlich aus Coniothecien.

Wie stark das Fließpapier durchsetzt ist, zeigt Abbildung 6, die einen Querschnitt durch eine derartige Fließpapierunterlage darstellt.

2. Wachstum auf Brot. Dünne Brotscheiben auf Fließpapierunterlage in Petri-Schalen wurden sterilisiert, geimpft, 48 Stunden im Thermostaten bei 37°, danach bei gewöhnlicher Temperatur gehalten.

Nach 3 Tagen: Mycel ca. 4—5 cm, sehr fein, weißlich.

Nach 5 Tagen: Mycel über die ganze Schale gewachsen, weißlich. Innere Fläche von 4—5 cm Durchmesser grauweiß mit Coniothecienbildung.

Nach 9 Tagen: Mycel stark dunkelgrau gefärbt, ca. 5 mm hochgehend, Coniothecien zahlreich vorhanden. Späterhin sinken die Brotscheiben mehr und mehr ein und das Mycel nimmt einen bräunlichen Farbenton an.

3. Wachstum auf Traubenzuckeragar. Es wurden mehrere Kulturen angelegt, davon die Hälfte (a) in gewöhnlicher Lage, die Hälfte (b) umgekehrt gehalten. Temperatur 37° C, vom 5. Tage ab bei 20° C.

Nach 24 Stunden: a) Mycel bis 2 cm Durchmesser, flach aufliegend; b) Mycel ca. 1,5 cm, mit 1 cm hohen Lufthyphen.

Nach 2 Tagen: a) Mycel 5—6 cm, flach aufliegend, mit wenig kurzen Lufthyphen; b) Mycel ca. 3 cm, hauptsächlich aus Lufthyphen bestehend, die bis an den Deckel reichen,

Nach 4 Tagen: a) Mycel über die ganze Platte gewachsen, grauweiß, starke Coniothecienbildung vorhanden, namentlich im Umkreis des ersten 24 Stunden-Wachstums; b) Mycel fast die ganze Schale erfüllend, mucorartig, nur wenig Hyphen in den Agar gewachsen. Coniothecienbildung im Bereiche des ersten 24 Stunden-Wachstums.

Nach 14 Tagen: a) Keine wesentliche Veränderung. Der Agar ist dunkel gefärbt; b) Lufthyphen kaum vermehrt; dagegen Agar von Mycel durchwachsen und mit Coniothecien wie übersät; auch die Lufthyphen tragen zahlreiche Coniothecien. Weiterhin schwinden die Lufthyphen und das Weiterwachstum geht im Agar vor sich.

4. Vergleichendes Wachstum auf sauren und alkalischen Nährböden (Agar und Gelatine), Kultur auf Erdnußmehl und bei verschiedenen Temperaturen.

Zu diesem Zwecke wurden eine Anzahl Kulturen auf saurem und alkalischem Agar, saurer und alkalischer Gelatine und Mehl aus Erdnüssen hergestellt. Die Agar- und Erdnußkulturen kamen zunächst auf 48 Stunden in den Thermostaten und zwar in umgekehrter Lage. Die Gelatineplatten wurden bei 20° C gehalten. Nach 48 Stunden wurde ein Teil der sauren und alkalischen Agarplatten, sowie die Erdnußkulturen in gewöhnliche Temperatur gebracht, späterhin geschah dies auch mit den übrigen Agarkulturen, um ein zu starkes Austrocknen zu verhindern. Nach 24-stündigem Verweilen im Thermostaten wurden die Agarkulturen, nach 48 Stunden auch die Erdnußkulturen in gewöhnliche Lage gebracht. Das Halten der Kulturplatten in umgekehrter Lage wurde ausgeführt, um einesteils ein besseres Angehen der Kulturen zu erzielen, andererseits um ein schnelles Ueberwachsen der Erdnußkulturen zu erzielen; die letzteren wurden weiterverarbeitet, um die Einwirkung des Pilzes auf gewisse Bestandteile der Erdnuß kennen zu lernen, worüber bereits im vorstehenden berichtet wurde.

Ueber das Ergebnis der vorliegenden Versuche gibt die nachfolgende Tabelle II Auskunft. Zur Erläuterung derselben mögen die folgenden Bemerkungen dienen:

(Siehe Tabelle II p. 654, 655.)

Im allgemeinen ist das Wachstum auf allen Nährböden ein ziemlich gleichmäßiges und gutes, besonders üppig gestaltet es sich auf dem Erdnußmehl. Es sind aber kleine Unterschiede nicht zu verkennen, die einerseits durch die höhere Temperatur, andererseits durch die Reaktion des Nährbodens veranlaßt werden. Das Wachstum auf den alkalischen Nährböden ist durchweg ein etwas geringeres als dasjenige auf sauren Böden, so daß Coniothecium arachideum von dem Verhalten der Schimmelpilze im allgemeinen keine Ausnahme macht. Daß aber dieser Umstand für ihn von keiner großen Bedeutung ist, geht aus dem kräftigen Wachstum auch auf den alkalischen Nährböden hervor.

Eigentümlich ist allerdings die starke Verzögerung der Coniothecienbildung auf diesen Nährböden, die zwar auch bei der sauren Gelatine relativ spät einsetzt (11. Tag), bei der alkalischen Gelatine aber erst gegen den 19. Tag zur Wahrnehmung kommt, bei dem alkalischen Agar, der bei gewöhnlicher Temperatur gehalten wurde, bis zu diesem Tage überhaupt noch nicht vorhanden ist.

Daß auch die höhere Temperatur das Wachstum unseres Pilzes günstig beeinflußt, geht ebenfalls ganz unzweideutig aus der Tabelle hervor, die nicht bloß die Einwirkung auf das Längenwachstum, sondern auch auf den Beginn der Coniothecienbildung zeigt. Eine besondere Eigentümlichkeit, für deren Ursache ich keine rechte Erklärung finde, ist die Rosafärbung des Mycels, die auf den bei gewöhnlicher Temperatur gehaltenen Platten zum Vorschein kommt und auch schon früher bei den Kartoffelkulturen bemerkt wurde. Sie tritt relativ spät auf, zu einer

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

***R. Lucks**, Coniothecium arachideum, ein neuer, auf Erdnüssen vorkommender Pilz.*

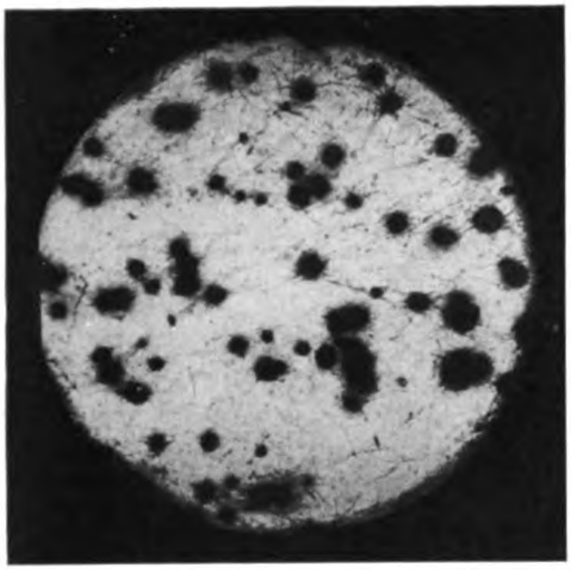


Fig. 1.

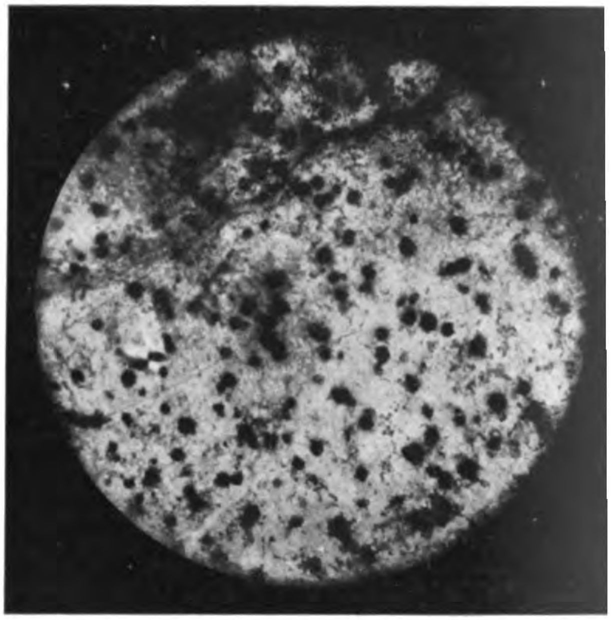


Fig. 2.

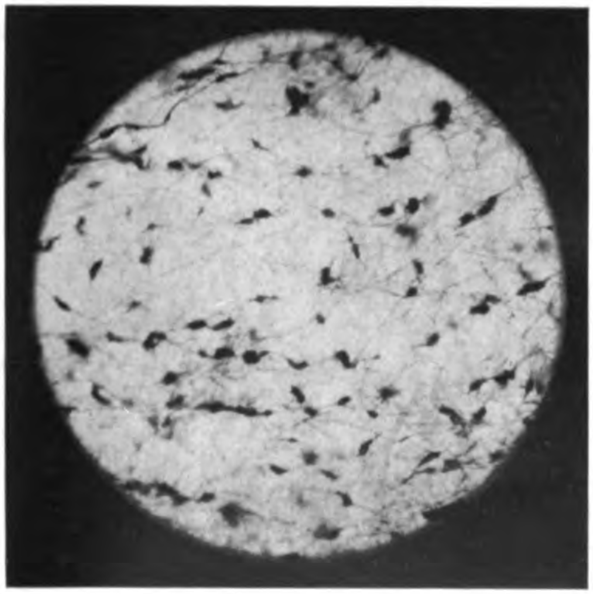


Fig. 3.

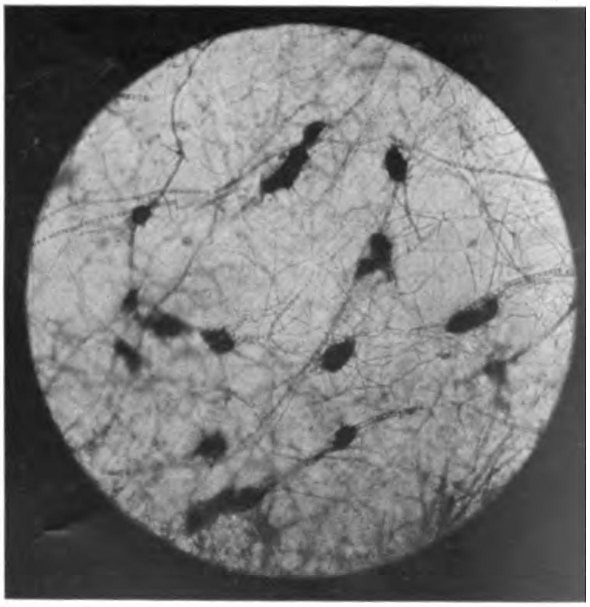


Fig. 4.

R. Lucks, phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

R. Lucks, *Coniothecium arachideum, ein neuer, auf Erdnüssen vorkommender Pilz.*

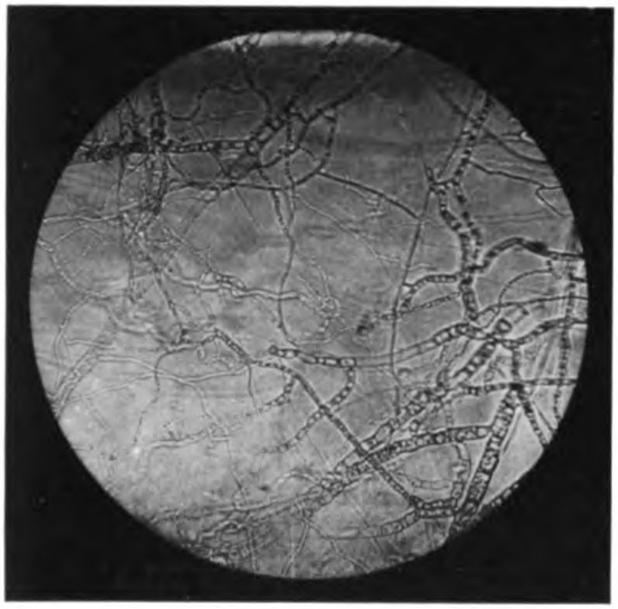


Fig. 5.

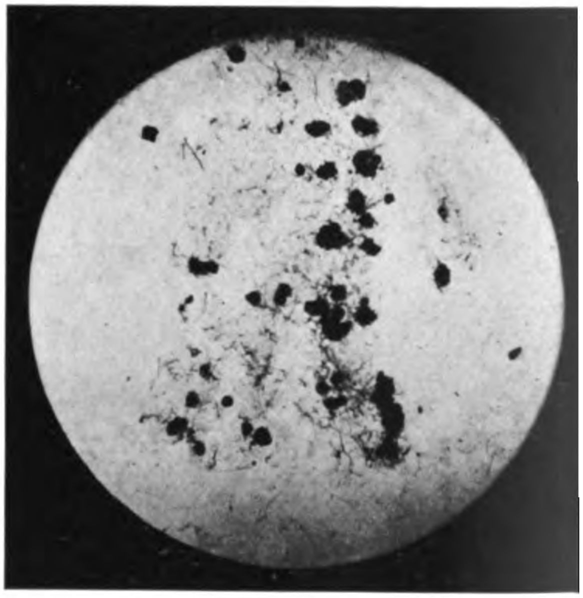


Fig. 6.

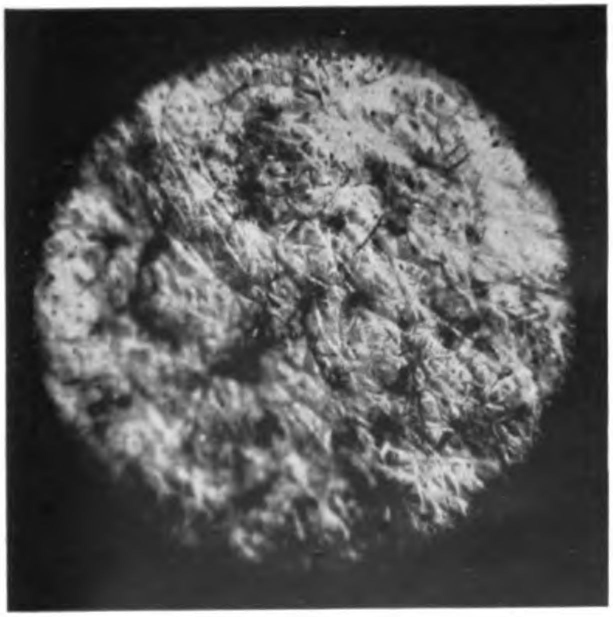


Fig. 7.

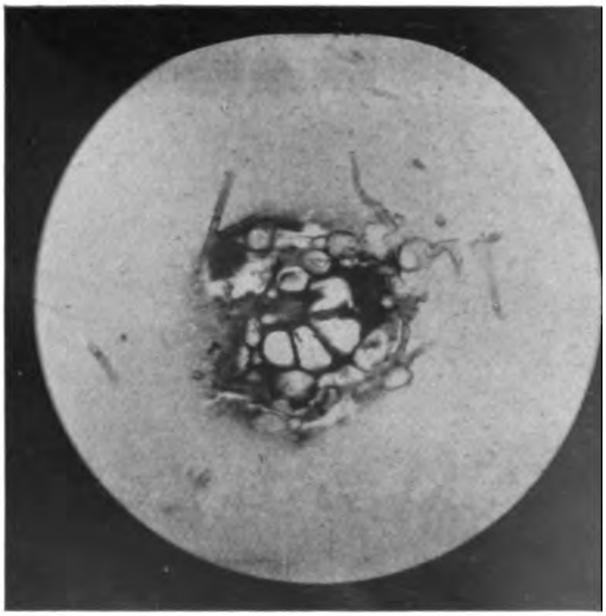


Fig. 8.

R. Lucks, phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XXIII. *Taf. III.*

R. Lucks, *Coniothecium arachideum, ein neuer, auf Erdnüssen vorkommender Pilz.*

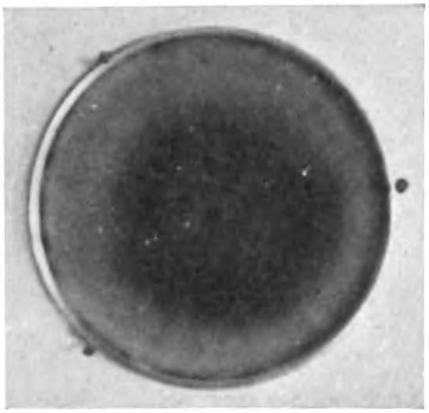


Fig. 9.

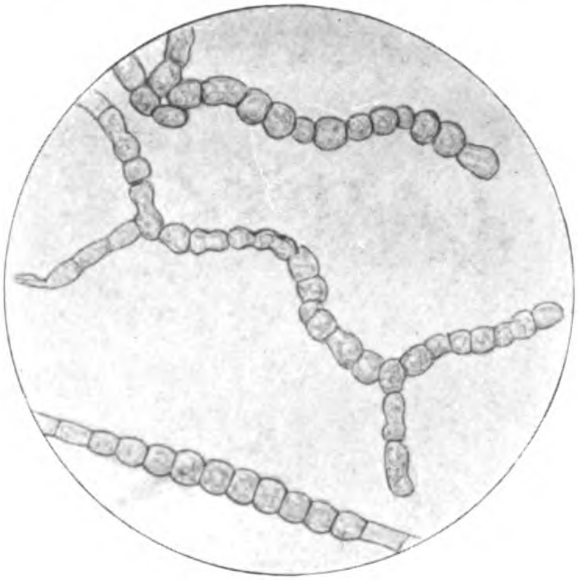


Fig. 10.

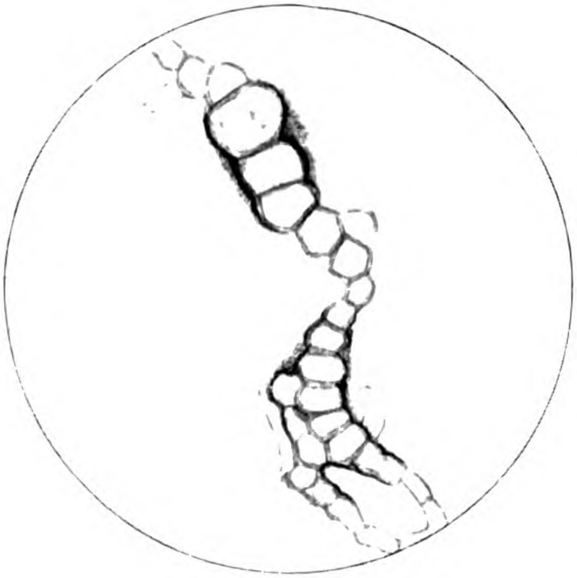


Fig. 11.

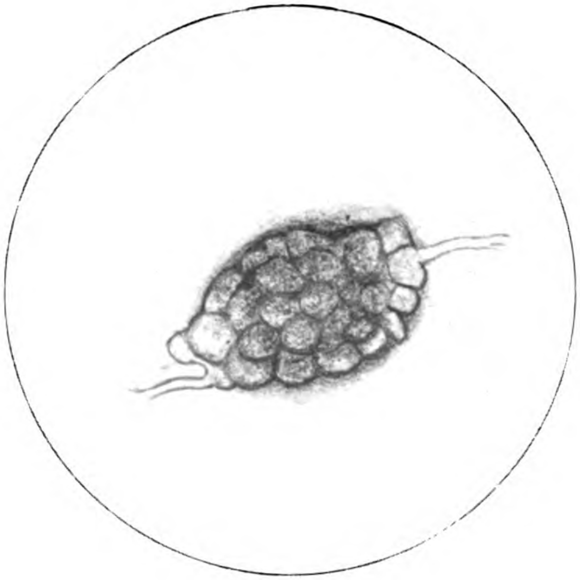


Fig. 12.

R. Lucks, phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Zeit, wenn das Mycel bereits Neigung zu der charakteristischen Graufärbung zeigt.

In allen Kulturen macht sich nach einiger Zeit der bekannte Schimmelgeruch bemerkbar. Sehr empfindlich ist der Pilz, wie schon erwähnt wurde, gegen Fremdinfektion. Bei gleichzeiger Infektion des Nährbodens mit anderen Organismen kommt er überhaupt nicht zum Wachsen, während er bei nachträglicher Infektion, namentlich durch Bakterien, selbst wenn er sich schon kräftig entwickelt hat, leidet und stark zurückgeht, bis er gänzlich überwuchert ist.

Es sei mir gestattet, noch etwas auf die morphologischen Verhältnisse des Pilzes einzugehen. Das Mycel selbst bietet nichts Bemerkenswertes (Fig. 5). Die auffälligste Erscheinung sind jedenfalls die als Coniothecien bezeichneten Nebenfruchtformen. Ueber den Bau derselben erhält man am besten Aufschluß bei Verfolg ihrer Ausbildung oder aus Querschnitten durch junge Organe (Fig. 8). Späterhin werden sie hart und lassen sich schwer schneiden, da sie leicht zerbrechen. Ihre Entwickelung geht folgendermaßen vonstatten:

Bei den mehrere Tage alten Hyphen beginnen an verschiedenen Stellen die anfangs zylindrischen Zellen tonnenförmig anzuschwellen, so daß rosenkranzähnliche Gebilde, wie sie früher als Torula bezeichnet wurden, entstehen (Fig. 10). Die Zellen vergrößern sich mehr und mehr, runden sich ab und erhalten eine dickere Membran, die sich allmählich dunkel zu färben beginnt (Fig. 11). Sie werden Chlamydosporen genannt. Gleichzeitig findet im Bereiche dieser Bildungen ein stärkeres Aussprossen von Zellen statt, womit eine reichere Verästelung der Hyphen vor sich geht. Durch häufig auftretende Teilung der Chlamydosporen entstehen maulbeerartige Zellhaufen, die durch starke Farbstoffeinlagerung schließlich ganz undurchsichtig werden; es sind die fertigen Coniothecien (Fig. 12). Die Zeit, welche zu ihrer Ausbildung erforderlich ist, habe ich nicht direkt festgestellt; ich halte jedoch dafür, daß sie nur wenige Tage dauert, wie aus dem plötzlichen Auftreten derselben hervorgeht. Die Form und Größe ist je nach den Wachstumsbedingungen etwas verschieden. Normalerweise scheinen sie rundlich zu sein, doch kommen in Kulturen häufig auch langgestreckte Formen vor (Fig. 3 u. 4). Bei ungenügender Ernährung bleiben die Coniothecien klein, werden aber doch zahlreich gebildet. Während sie in den Erdnußhülsen regelmäßig auf der Innenseite derselben angelegt werden, kommen sie in künstlichen Kulturen überall zur Ausbildung, sogar an den Lufthyphen (Fig. 7).

Von einer Prüfung der diätetischen Bedeutung des Pilzes durch Fütterungsversuche mußte ich absehen. Versuche an wirtschaftlich wichtigen Tieren konnte ich nicht vornehmen, die bei solchen mit Mäusen und dgl. erhaltenen Resultate lassen sich nicht ohne weiteres auf jene übertragen.

Sicher erscheint jedenfalls sowohl nach den an hiesiger Versuchsstation als nach anderwärtig gemachten Erfahrungen, daß Erdnußkuchen, bei deren Aufnahme die Tiere Schwierigkeiten machen, häufig auffallend stark mit Coniothecium arachideum behaftet sind.

Tabelle II.

<table>
<tr><th></th><th colspan="2">Agar sauer</th><th colspan="2">Agar alkalisch</th><th>Gelatine sauer</th><th>Gelatine alkalisch</th><th>Erdnußmehl</th></tr>
<tr><td>1. Tag</td><td colspan="2">37° C, Platten in umgekehrter Lage.
Feines, grauweißes Mycel von etwa 1 cm Durchmesser mit starker Lufthyphenbildung (bis an den Deckel reichend). Platten in gewöhnliche Lage gebracht.</td><td colspan="2">37° C, Platten in umgekehrter Lage.
Feines, grauweißes Mycel von etwas unter 1 cm Durchmesser mit starker Lufthyphenbildung (bis an den Deckel der Schale gewachsen). Platten in gewöhnliche Lage gebracht.</td><td>20° C
Feines transparentes Mycel, das der Gelatine dicht aufliegt, etwa 0,5 mm.</td><td>20° C
Wie Gelatine sauer.</td><td>37° C in umgekehrter Lage
Feines weißes Mycel mit großer Neigung zur Lufthyphenbildung, ca. 3 cm Durchmesser.</td></tr>
<tr><td>2. Tag</td><td colspan="2">37° C, Platten in gewöhnlicher Lage.
Mycel 5,5 cm Durchmesser. (Die Hälfte der Platten weiterhin bei gewöhnlicher Temperatur [20°] gehalten.</td><td colspan="2">37° C, Platten in gewöhnlicher Lage
Mycel 3,5 cm Durchmesser. (Die Hälfte der Platten weiterhin bei gewöhnlicher Temperatur [20°] gehalten).</td><td>Mycel 2,5—3,5 cm, flach anliegend, transparent.</td><td>Mycel 2,5—3 cm, flach aufliegend, transparent.</td><td>Sämtliche Platten sind von weißem, mucorartigem Mycel überwachsen, das fast den ganzen Schalenraum erfüllt. Das Wachstum des Pilzes ist auffallend üppig. Die Schalen werden aus dem Brutschrank genommen.</td></tr>
<tr><td>3. Tag</td><td>37° C
Mycel 7—8,5 cm, Coniothecien noch nicht wahrnehmbar.</td><td>20° C
Mycel 6,5—7,0 cm, Coniothecien noch nicht wahrnehmbar.</td><td>37° C
Mycel 4,5—5 cm, etwas dichter wie bei Agar sauer. Coniothecien nicht wahrnehmbar.</td><td>20° C
Mycel 3,5 cm, Coniothecien nicht wahrnehmbar.</td><td>Mycel 6 ccm, transparent.</td><td>Mycel 5—5,5 cm, transparent.</td><td>20° C in gewöhnlicher Lage
Luftmycel sinkt ein und wird in der Mitte grauweiß. Ob Coniothecien vorhanden?</td></tr>
<tr><td>4. Tag</td><td>Mycel 8—9 cm, transparent. Coniothecien in einem Ring von ca. 5 cm Durchmesser und 1 cm Breite deutl. erkennbar (dunkler Ring).</td><td>Mycel 7,5 cm, weißlich, mit weißer, etwas erhabener Randzone von etwa 5 mm Breite aus dicht stehenden Lufthyphen gebildet. Coniothecien noch nicht wahrnehmbar.</td><td>Mycel ca. 7 cm, etappenartig gewachsen. Ein Coniothecienring von ca. 4,5 cm Durchmesser in Ausbildung begriffen.</td><td>Mycel 4,5 cm, mit weißer, etwas erhabener Randzone von ca. 5 mm Breite. Coniothecien noch nicht erkennbar.</td><td>Mycel 8 cm, nach dem Rande zu etwas weißlich werdend durch Ausbildung von Lufthyphen. Coniothecien nicht wahrnehmbar.</td><td>Mycel 6,5—7,0 cm, nach dem Rande zu etwas weißlich werdend. Coniothecien nicht wahrnehmbar.</td><td></td></tr>
</table>

5. Tag	Mycel über die ganze Platte gewachsen, spärl. Luftmycel. Starke Coniothecienbildung über die ganze Fläche d. Schale.	Mycel erreicht stellenweise den Rand der Schale. Mittlere Fläche von 6 cm mit spärlichem Luftmycel. Um dieselbe ein Rand von 1—1,5 cm mit starker Lufthyphenbildung, so daß die innere Fläche von einem fast weißen Ring umgeben ist. Coniothecienbildung in einer Ausdehnung von 5 cm gut sichtbar.	Mycel hat noch nicht den Schalenrand erreicht. Um das Mycel des vorigen Tages hat sich eine zweite Zone von 1—1,5 cm Breite gebildet, Rand buchtig, durch Lufthyphenbildung weißlich. Coniothecienbildung im Umkreise von ca. 4,5 cm mit stark ausgeprägter Ringbildung.	Mycel ca. 6 cm. Innere Zone von 3,5—4 cm transparent (ohne Lufthyphen), daran scharf abschneidend ein Ring von ca. 8 mm bis 1 cm Breite, von reichl. entwickeltem Luftmycel weißwollig erscheinend. Coniothecienbildung nicht wahrnehmbar.	Mycel wächst am Rande der Schale empor; wenig spärliches Luftmycel, so daß die Platte fast transparent erscheint, nach dem Rande zunehmend, daher weißlich werdend. Coniothecienbildung nicht wahrnehmbar.	Mycel hat den Schalenrand erreicht und wächst daran empor. Im übrigen wie bei Gelatine sauer.	Luftmycel abnehmend, stärker verfärbt, ins graugrüne spielend. Coniothecienbildung scheint stark vorhanden zu sein, da das Mehl sehr dunkel wird.
11. Tag	Keine wesentlich. Veränderung. Coniothecien bis zum Rande hin dicht stehend und gut ausgebildet. Wegen Gefahr des Eintrocknens aus d. Brutschrank genommen.	Mycel bis zum Rande. Eine breite Randzone weiß, dicht mit Luftmycel bedeckt. Innere Zone von 5—6 cm mit wenig flockigem Luftmycel. Innere Fläche von 5 cm dicht mit Coniothecien bedeckt, scharf abgesetzt. Im übrigen Mycel setzt ebenfalls Coniothecienbildung ein.	Keine wesentliche Veränderung. Mycel ca. 8 cm. Der Rand der Wachstumszonen etwas stärker hervortretend. Innere Fläche von 4,5 cm dicht mit Coniothecien bedeckt. Die Platten werden aus dem Brutschrank genommen.	Mycel etwas vergrößert; im übrigen aber wenig verändert.	Gelat. etwas bräunlich gefärbt, dickflüssig. Im übrigen wenig verändert. Coniothecienbildung scheint einzusetzen.	Wie bei Gelatine sauer. Gelatine aber nicht weich geworden.	Platten schwarz geworden. Luftmycel weiter eingesunken, mäusegrau. Mycel durch das Fließpapier gewachsen und am Boden der Schale ausgebreitet. Das Fließpapier wird schwärzlich gefleckt.
19. Tag	20° C Agar dunkel gefärbt. Luftmycel am Rande stark entwickelt, weiß, in dichten, niedrig. Watten, nach der Mitte zu abnehmend.	Agar dunkel gefärbt. Coniothecien bis zum Rande gut ausgebildet. Oberfläche mit dichtem, grauem Mycel von einer weißen breiten Randzone umgeben. Stellenweise leichte Rosafärbung des Luftmycels.	20° C Mycel fast den Rand erreichend. Wenig flockiges Luftmycel im Innern, nach außen zunehmend und dichter stehend. Die Coniothecientragende Fläche hat sich etwas vergrößert (5,5 cm).	Mycel den Rand erreichend. Innere Zone (3—3,5 cm) spärliches Luftmycel, dann (5—6 cm) dichter bis flockig, dann bis zum Rande dicht und zum Teil aufsteigend, aber immer niedrig bleibend. Der äußere Rand stark rosa verfärbt. Conioth. noch nicht wahrnehmbar.	Gelat. dunkel, syrupartig dickflüssig, Luftmycel grauweiß, flockig. Coniothecien zahlreich bis zum Rande. Bei einigen Platten eine leichte Rosaverfärbung des Luftmycels vorhanden.	Gelatine dunkelbraun, mit zahlreichen Coniothecien bis zum Rande. Luftmycel flockig bis dicht, nicht hochgehend (ca. 2 mm), grauweiß bis mäusegrau mit stellenweise Rosafärbung.	Nicht wesentlich verändert, vielleicht dunkler geworden. Das Mehl ist von Coniothecien dicht durchwachsen, die dunkle Verfärbung des Fließpapiers ist weiter gegangen.

Nachdruck verboten.

Ueber Aphelenchus olesistus Ritz. Bos und die durch ihn hervorgerufene Aelchenkrankheit der Chrysanthemum.

Von Dr. **E. Molz,**
Vorstand der Pflanzenschutz-Abteilung der chem. Fabrik Dr. H. Nördlinger, Flörsheim a. M.

Mit 1 Tafel und 2 Textabbildungen.

Die nachstehende Arbeit wurde in der Pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim auf Anregung des dortigen Vorstandes, Prof. Dr. Lüstner, ausgeführt.

Auf die Aelchenkrankheit der Chrysanthemum wurde schon von verschiedener Seite hingewiesen. Sie wird hervorgerufen durch Aphelenchus olesistus, über dessen Biologie uns Ritzema Bos (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1893) zuerst Aufklärungen gab. Dieser beobachtete die Aelchen bei Begonia, Asplenium spp. und Pteris spp. Hofer (ebenda, 1901) fand sie in Chrysanthemum-Blättern, Lüstner (Geisenheimer Jahresbericht, 1902) bei Coleus. Später wurde dieser Nematode noch bei verschiedenen anderen Pflanzen festgestellt.

In diesem Jahre trat der Schädling besonders stark in den Chrysanthemum-Kulturen der Königlichen Lehranstalt und einigen Gärtnereien in Geisenheim auf. Es war mir dadurch Gelegenheit zu weiteren Studien über die Lebensweise und Bekämpfung dieses Schädlings gegeben.

Die äußeren Krankheitserscheinungen, die Aphelenchus an den Chrysanthemum-Blättern hervorruft, sind bekannt. Die unteren Blätter beginnen mißfarbige Flecken zu bekommen, die meist durch die größeren Nerven scharf umgrenzt sind. Die erkrankten Stellen zeigen anfänglich gesteigerten Turgor, später werden die Blätter dort schlaff und vertrocknen. Die angrenzenden Blatteile werden gleichfalls in Mitleidenschaft gezogen. Sie bekommen ein blaßgrünes bis chlorotisches Aussehen, und schließlich stirbt das ganze Blatt ab und bleibt im dürren Zustande noch lange an dem Stocke hängen (vgl. Fig. 1 Taf. I).

Ritzema Bos hat in seiner schon oben erwähnten Arbeit darauf hingewiesen, daß Aphelenchus einen Saft ausscheidet, der die Zellen abtötet. Auf den Tod des Plasmas der Zelle ist auch das rasche Vertrocknen der von Aelchen befallenen Blatteile zurückzuführen, namentlich bei ungenügender Wasserzufuhr durch die Pflanze. Die abgetöteten Blatteile vermögen das Wasser nicht mehr in sich zurückzuhalten, sie verdunsten es in gesteigertem Maße, wie aus folgenden Transpirationsversuchen, bei denen einesteils durchaus gesunde, anderenteils stark älchenkranke Blätter als Objekte dienten, deutlich hervorgeht. Die Blätter waren in möglichst gleicher Höhe von denselben Stöcken entnommen und so zugeschnitten worden, daß am Blattstiele 12 ccm Blattfläche stehen blieben. Dann kamen die Blätter mit ihren Stielen in kleine, mit Wasser gefüllte Erlenmeyer-Kolben. Hier wurde ihre Transpirationsgröße innerhalb eines bestimmten Zeitraumes durch den Wasserverlust ermittelt. Diese Versuche sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

(Siehe Tabelle p. 657.)

Auffallend ist die Erscheinung, daß fast nur die unteren Blätter der Chrysanthemum bis zu einer Höhe von 50 cm von den Nematoden befallen werden. Es scheint mir, als ob diese Tatsache aufs engste mit

Versuchsdauer	Transpirationsgröße bei gesundem Blatt	Transpirationsgröße bei krankem Blatt
10^{30} a. am 10. Sept. bis 8^{30} a. am 11. Sept.	3,90 g	5,95 g
9 a. am 11. Sept. bis 9 a. am 12. Sept.	1,65 „	4,40 „
10 a. bis 5 p. am 8. Sept.	2,28 „	4,69 „
6 p. am 8. Sept. bis 8^{15} p. am 9. Sept.	0,50 „	0,85 „
9 a. bis 6 p. am 9. Sept.	4,25 „	8,45 „
	12,58 g	24,34 g

der Art der Infektion zusammenhinge. Ich habe nämlich auf der Unterseite der Blätter, die in ihrem Inneren Aelchen beherbergten, Bodenteilchen feststellen können, die durch aufschlagenden Regen dorthin gelangt waren. Daß man mit Erde beschmutzte Blätter noch in so großer Höhe antrifft, ist darauf zurückzuführen, daß diese Blätter bei ihrem Entstehen sich näher an dem Boden befanden, und daß sie den erwähnten Bodenabstand erst durch die internodiale Streckung der krautigen Triebe erlangten. Der Einwand, daß die älteren Blätter den Aelchen vielleicht günstigere Lebensbedingungen bieten, hat vieles für sich, doch habe ich zuweilen an den ganz jungen Blättern von bodenständigen Stockausschlägen das Auftreten der Krankheit konstatieren können.

Der von Kati Marcinowski (Mitt. a. d. Kaiserl. Biol. Anstalt. 1908. Heft 6. p. 42) geäußerten Ansicht, daß nicht anzunehmen sei, daß die Erde bei der Uebertragung der Nematodenkrankheit eine wesentliche Rolle spiele, kann ich somit nicht beipflichten. Auch ihre Vermutung, daß die Infektion von den unterirdischen Pflanzenteilen aus erfolge, trifft für meine Beobachtungsfälle nicht zu. Es wurde nämlich bei einigen Chrysanthemum-Stöcken die erkrankten Blätter entfernt, und die Töpfe im Laboratorium aufgestellt. Die achsenständigen Knospen am Grunde der Blattstiele trieben nun von neuem aus, doch blieben die jungen Blätter vollkommen gesund. Eine Infektion von innen heraus fand also nicht statt.

Auch der von Ritzema Bos (l. c. p. 46) angeführte Versuch, bei dem er kranke Begonienblätter zerstückelte, die Stücke mit Erde mischte und in diese Erde Begonien pflanzte, ohne daß diese erkrankten, spricht gegen eine Infektion vom Wurzelwerke aus.

Für das Zustandekommen einer Aphelenchus-Infektion bei Chrysanthemum scheint, wie aus nachstehenden Versuchen hervorgeht, das Vorhandensein von Gewebeverletzungen eine notwendige Bedingung oder doch sehr wesentlich zu sein. Zu den Versuchen wurden zwei verschiedene Chrysanthemum-Sorten, eine gegen Aphelenchus ziemlich widerstandsfähige, Viviand Morel, und eine empfindliche, Nobel, benutzt. Die Versuche kamen sämtlich bei je drei Blättern zur Ausführung. Die Versuchsanordnung, sowie die Resultate sind aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich:

(Siehe Tabelle p. 658.)

Aus diesen Versuchsergebnissen ist, soweit sie bei der geringen Zahl der ausgeführten Versuche ein Urteil zulassen, zu ersehen, daß das Einwandern der Tiere nur an den verletzten Stellen der Blätter erfolgt. Das Ergebnis schließt die Möglichkeit der Einwanderung durch die Spaltöffnungen, wie sie Osterwalder, Sorauer und Marcinowski annehmen, allerdings nicht aus. Doch bevorzugen die Tiere zum Ein-

Infektionsversuche am 17. September 1908.

Lfd. No.	Versuchsanordnung	Resultat am 30. Sept. 1908
1	Ein mit Aelchen behafteter Blatteil von 2 qcm Größe wurde mit seiner Oberseite auf die Oberseite eines etwa 50 cm über der Topferde stehenden Blattes der widerstandsfähigen Sorte Viviand Morel aufgelegt und mit einem kleinen Blatte Filtrierpapier überlegt, das mit Nadeln in der Weise auf der Unterlage festgesteckt wurde, daß die Stiche das Infektionsobjekt nicht berührten. Das Filtrierpapier wurde bei sämtlichen Versuchen täglich angefeuchtet.	Blattstellen, an denen das Infektionsstück aufgelegen hat, gesund aussehend. Unterlage nur in der Nähe der Nadelstiche vergilbt und teilweise gebräunt. Aelchen in der Unterlage nirgends nachweisbar.
2	Ebenso behandelt wie vorher, nur wurde das Filtrierpapier nicht festgesteckt, sondern in einiger Entfernung von dem Infektionsobjekt auf das Unterlageblatt mit Klebstoff leicht befestigt.	Unterlagen gesund, Aelchen nirgends nachweisbar.
3	Wie bei 1, doch Unterseite auf Unterseite.	Wie bei 1.
4	Die Oberseite des Infektionsobjektes wurde durch Abnahme der Epidermis und der Palissaden verletzt, desgleichen die der Unterlage, dann die verletzten Stellen aufeinandergepaßt und das Infektionsstück wie bei 1 mit Filtrierpapier übersteckt.	Unterlage an der verletzten Stelle abgestorben, die umgrenzenden Partieen gedunkelt, vereinzelt Aelchen nachweisbar.
5	Wie bei 1 bei der Aelchen-empfindlichen Sorte Nobel ausgeführt.	Wie vorher.
6	Versuchsanordnung wie bei 2. Sorte: Nobel.	Wie bei 2.
7	Versuchsanordnung wie bei 3. Sorte: Nobel.	Unterlagen an der Auflagestelle des Infektionsstückes gesund, Aelchen hier nicht nachweisbar. Dagegen wurden Aelchen ganz in der Nähe eines Nadelstiches etwa 1 cm von dem Infektionsstück entfernt angetroffen, ebenso zahlreiche Eier.
8	Versuchsanordnung wie bei 4. Sorte: Nobel.	Unterlagen an der verletzten Stelle abgestorben. Blatt an dem ganzen verletzten Interkostalfeld vergilbt, zum Teil auch etwas gedunkelt. Aelchen überall nachweisbar, in einem Falle 2,7 cm von der Infektionsstelle entfernt; im übrigen das Blatt aber älchenfrei.

wandern in ein Blatt ohne Zweifel Verletzungen, was ja auch sehr einleuchtend ist, wenn man bedenkt, daß der Eintritt durch die engen Spaltöffnungen, wenn wir deren Durchmesser mit demjenigen der Tiere vergleichen, sehr schwierig sein wird und das Vermögen der Tiere, ihren Körperdurchmesser stellenweise stark verdünnen zu können, zur Voraus-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

setzung hat. Man vergleiche die nachstehenden Messungen der Größe der Spaltöffnungen mit dem aus einer späteren Tabelle ersichtlichen Durchmesser der Tiere.

Lichter Durchmesser der Spaltöffnungen eines Chrysanthemumblattes an der Unterseite.

lang	breit	lang	breit
15,4 µ	3,9 µ	20,4 µ	4,8 µ
19,8 „	3,7 „	21,3 „	6,8 „
19,2 „	2,6 „	17,3 „	3,9 „
18,0 „	4,6 „	12,9 „	3,3 „
25,3 „	2,2 „		

Gewebeverletzungen entstehen bei Chrysanthemum durch Insektenschädlinge, ganz besonders aber durch das Ausbrechen der an den Insertionsstellen des Blattstieles achselständigen Geiztriebe, das etwa mit Ende Juli beginnt. In dieser Zeit wurden hier auch die ersten Infektionen wahrgenommen. Sehr häufig gehen diese von der eben gekennzeichneten Stelle aus, und diese Erscheinung verleitet dann hier leicht zur Annahme, als ob der Parasit durch den Stengel in den Blattstiel und von da in die Spreite einwandere, wie sie durch Ritzema Bos (l. c. p. 75) für die Infektion der Farnkrautblätter vertreten wird. Schon Sorauer (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1902. p. 190) spricht sich gelegentlich einer bei Begonien vorgenommenen Untersuchung gegen diese Annahme aus. „Denn die Untersuchung der Blattstiele erkrankter Blätter, sowie der Zweige zeigt, daß eine Wanderung der Nematoden in den Achsenorganen von unten her nicht stattfindet; das Gewebe ist auf große Strecken hin völlig gesund und älchenfrei, so daß man annehmen muß, die Wanderung der Nematoden erfolgt an der Oberfläche von Blatt zu Blatt.“ Auch ich habe in den Stengeln von älchenkranken Chrysanthemum-Pflanzen Nematoden nicht feststellen können.

Nach Ritzema Bos (l. c. p. 72) findet die Verbreitung der Aphelenchen in der Begonie teilweise in den Nerven statt. Ich habe bei Chrysanthemum trotz sehr zahlreicher Untersuchungen niemals ein Aelchen innerhalb der Gefäße gefunden. Ja es ist hier, wenn man die nachstehenden Messungen des Lumens der Gefäße eines Chrysanthemum-Blattes berücksichtigt, ganz abgesehen von den Schwierigkeiten des Ein- und Austrittes in diese Gewebeteile, den Tieren wohl nur sehr schwer möglich, innerhalb solch enger Röhren größere Wanderungen vorzunehmen.

Lumen der Gefäße im Mittelnerv des Blattes nach Abzweigung der ersten Seitennerven	Lumen der Gefäße im Mittelnerv aus der Mitte eines Chrysanthemumblattes
22,0 × 19,1 µ	22,0 × 11,2 µ
20,0 × 16,5 „	15,4 × 14,0 „
26,4 × 19,8 „	16,0 × 13,8 „
24,4 × 22,0 „	24,2 × 20,9 „
25,5 × 19,1 „	14,3 × 11,0 „
22,0 × 18,7 „	22,2 × 13,4 „

Dasselbe aus dem oberen Drittel des Blattes	Lumen der Gefäße in der Mitte des ersten Seitennerven
10,7 × 6,6 μ	16,9 × 15,4 μ
7,2 × 6,8 „	13,2 × 12,1 „
9,4 × 5,9 „	20,6 × 14,3 „
9,6 × 7,7 „	16,5 × 15,4 „
8,3 × 6,5 „	12,7 × 11,0 „
7,8 × 7,2 „	17,8 × 11,8 „

Da über die Größenverhältnisse von **Aphelenchus olesistus** in **Chrysanthemum** nur sehr wenige Zahlen vorliegen, so habe ich bei dieser Gelegenheit bei meinen Messungen auch andere Körperdimensionen berücksichtigt.

Lfd. No.	Geschlecht	Körperlänge in μ	Größte Breite in μ	Länge des Mundstachels in μ	Entfernung zwischen Vulva und Schwanzspitze	Körperlänge/ Körperbreite	Körperlänge/ Entfernung zwischen Vulva und Schwanzspitze
1	♂	774	19,6	11,0	—	39/1	—
2	♂	818	17,2	11,2	—	48/1	—
3	♂	790	16,8	11,4	—	47/1	—
4	♂	762	16,0	9,8	—	48/1	—
5	♂	914	20,4	11,6	—	45/1	—
6	♂	938	17,2	11,6	—	55/1	—
7	♀	1018	20,4	12,1	342	50/1	3,0/1
8	♀	922	18,0	11,6	290	51/1	3,2/1
9	♀	1146	21,2	11,2	350	54/1	3,3/1
10	♀	1090	17,2	11,8	316	63/1	3,4/1
11	♀	826	16,4	11,0	274	50/1	3,0/1
12	♀	1018	18,8	13,2	358	54/1	2,8/1
13	♀	1066	23,2	14,3	412	46/1	2,6/1
14	♀	938	20,4	11,0	346	46/1	2,7/1
15	♀	1059	26,4	11,7	310	40/1	3,4/1

Die Größe der Spicula des Männchens liegt zwischen 8,2—10 μ.

Auch bei den Eiern (Ei mit Embryo siehe Fig. 3, Taf. I) erschien es mir notwendig, eine größere Anzahl von Messungen vorzunehmen, da darüber bezüglich des **Aphelenchus** in **Chrysanthemum** noch keine Angaben gemacht wurden.

(Siehe Tabelle p. 661.)

Die jungen aus dem Ei schlüpfenden Larven haben eine Länge von 160—180 μ und eine Breite von etwa 10 μ.

Nach meinen Beobachtungen meidet **Aphelenchus olesistus** alle Gewebeteile, deren Zellen in lückenlosem Verbande stehen. Aus diesem Grunde trifft man ihn niemals innerhalb des Palissadenparenchyms oder dem Zellengewebe der Gefäßscheiden. Auch in dem Gewebe des Stammteiles halten die Aelchen sich deswegen nicht auf. Im Blattstiele trifft man die Tiere vorwiegend in den Intercellularräumen des Parenchyms der von der Blattspreite sich herabziehenden Seitenlappen.

Die Scheu der Aelchen, die Gefäßscheiden zu durchdringen, macht die Nerven mehr oder weniger zu Grenzlinien ihres Tätigkeitsgebietes, was bei der vorliegenden Krankheitserscheinung ein charakteristisches Kennzeichen ist (vergl. Fig. 2, Taf. I). Man darf wohl annehmen, daß die

Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. XXIII.
E. Molz, *Ueber Aphelenchus olesistus Ritz. Bos etc.*

Fig. 1.

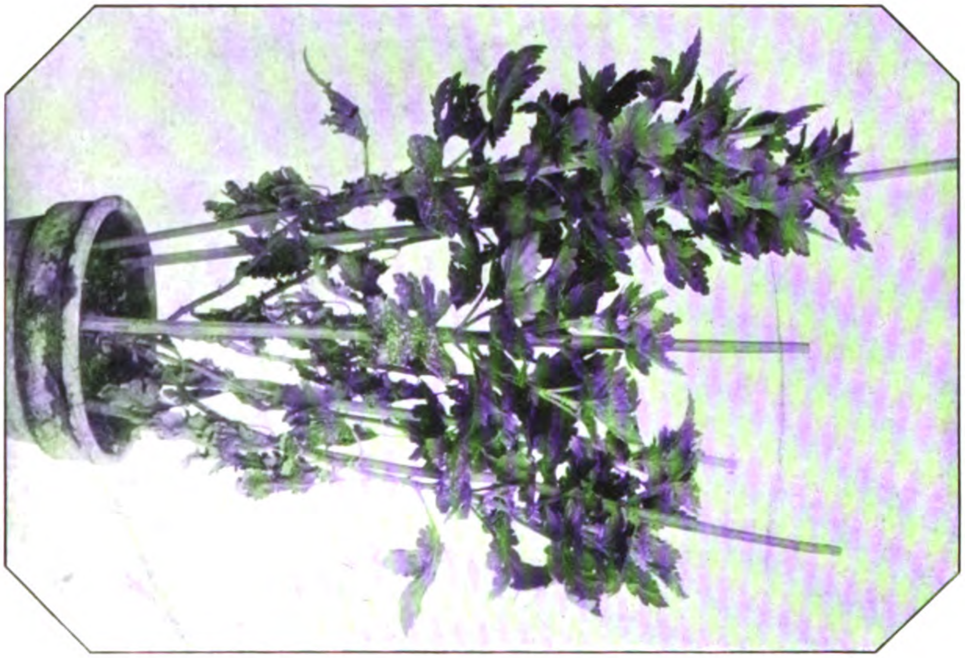


Fig. 2.

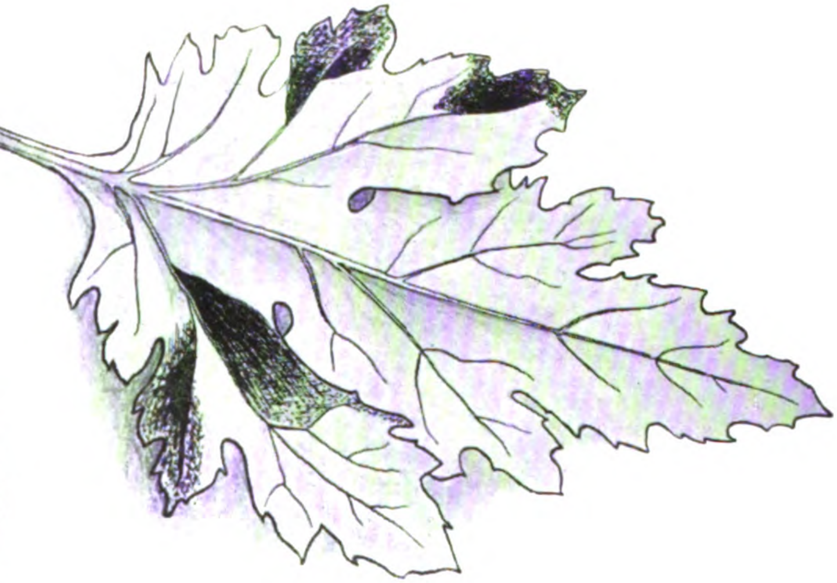
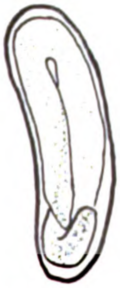


Fig. 3.



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

No.	Länge des Eies in µ	Breite des Eies in µ	Länge/Breite
1	72,0	22,0	3,3/1
2	83,6	26,4	3,1/1
3	79,4	24,2	3,3/1
4	70,2	23,5	3,0/1
5	78,6	19,6	4,0/1
6	77,6	19,5	4,0/1
7	66,0	20,9	3,2/1
8	72,6	24,2	3,0/1
9	67,0	23,1	2,9/1
10	68,4	24,2	2,8/1
11	63,8	24,2	2,6/1
12	74,8	23,7	3,2/1
13	79,5	19,6	4,1/1
14	70,5	24,5	2,9/1
15	73,5	20,5	3,6/1
16	76,4	27,2	2,8/1
17	70,5	22,0	3,2/1
18	85,8	22,0	3,9/1
19	69,5	21,5	3,2/1
20	69,4	19,6	3,5/1
21	71,5	22,5	3,1/1

größeren Nerven nur auf der Oberfläche des Blattes von den Tieren überschritten werden.

Die Wanderung der Tiere erfolgt sowohl im Innern der Blätter, wie ganz besonders auch auf deren Oberfläche. Wenn am Morgen die Blätter naß sind, lassen sich die Tiere auf ihren Wanderzügen mit Hilfe eines Binokulares sehr schön beobachten. Ihre Fortbewegung erfolgt schlangenartig und ist eine sehr rasche. Geschickt winden sie sich zwischen den Blatthaaren hindurch, wobei das adhärierende Wasser sie auf den Blättern festhält. Bei geringer Uebung des Blickes lassen sich die Aelchen anfänglich leicht mit den Blatthaaren selbst, die sich unter dem Atem des Beobachters hygroskopisch krümmen, verwechseln.

Diese Beobachtungen bestätigen, wie ich jetzt aus dem Hefte 6 der Mitteilungen der Biologischen Anstalt 1908 ersehe, die Feststellungen Marcinowskis, daß die Aphelenchen häufige und recht ausgedehnte Wanderungen auf der Oberfläche der Pflanzen vornehmen. Die Ansicht von Ritzema Bos (l. c. p. 75), daß alle in Pflanzen schmarotzenden Anguillulidenarten die Pflanzengewebe nur in sehr dringlichen Fällen verlassen, die dieser Forscher gegenüber der Meinung von Klebahn, daß unser Aphelenchus sehr wahrscheinlich durch die Epidermis in die Blätter eindringe, vertrat, läßt sich demnach nicht in vollem Umfange aufrecht erhalten. Auf jeden Fall ist das Wandern der Aelchen außerhalb des Blattgewebes sehr allgemein und häufig. Was die Dringlichkeit dieser Wanderung betrifft, so läßt sich diese für den Einzelfall nicht immer klar ermitteln. Einen Grund zur Wanderung gibt z. B. das Austrocknen der von Aelchen bewohnten Gewebe mit nachfolgender äußerer Befeuchtung derselben.

Das Austrocknen der kranken Stellen geht an heißen Tagen, an denen der Wasserzufluß von unten ein unzureichender ist, oft überraschend schnell vor sich, und es werden hierbei eine größere Anzahl von Aelchen infolge Zusammensinkens des Gewebes eingeschlossen und fallen vorläufig in die Trockenstarre. Wird nun ein solcher Blatteil von außen benetzt, so saugt das Gewebe wieder Wasser auf, es erweicht, und die scheinbar toten Tiere erwachen wieder zum Leben und gelangen sehr wahrscheinlich durch die beim Trocknen entstehenden Risse der Epidermis nach außen. Experimentell läßt sich dieser Vorgang sehr deutlich dadurch zeigen, daß man solche vor kurzer Zeit eingetrocknete Blattstücke mit Wasser tüchtig abbraust und dann in einem Uhrglas in Wasser legt und einige Zeit darin beläßt. Bei durchfallendem Lichte läßt sich dann mit Hilfe eines Binokulares ersehen, daß das Wasser allmählich von zahlreichen, geschickt schwimmenden Aelchen belebt wird.

Ich habe bei diesen Wanderungen auf der Blattaußenseite fast immer nur ausgewachsene Tiere gesehen. Ob die wandernden Tiere vornehmlich Weibchen oder Männchen waren, habe ich bei der schwachen Vergrößerung nicht unterscheiden können.

Es scheint aber, als ob die eierschwangeren Weibchen ein besonderes Wanderungsbedürfnis besäßen, denn man trifft in den Geweben die Eier fast immer in den Teilen des Blattes, die äußerlich noch ziemlich gesund aussehen, also in der weiteren Peripherie der älchenkranken Blattpartie oder in scheinbar vollkommen gesunden Blatteilen, wo offenbar dann das Muttertier erst vor ganz kurzer Zeit eingewandert ist. Es ist anzunehmen, daß Ritzema Bos wegen Nichtbeachtung dieser Umstände nur ein einziges Mal, wie er mitteilt (l. c. p. 78), Eier zu Gesicht bekam.

Die Wanderung der Muttertiere ist biologisch von hohem Interesse, denn wenn die wenig wanderungslustigen Larven gleich von vornherein auf bereits nahrungsarme Gewebebezirke angewiesen wären, so müßte das ihrem Gedeihen sehr hinderlich sein, auch wären sie bei dem oft raschen Abdürren der Aphelenchus-kranken Blattstellen häufig dem Vertrocknungstode ausgesetzt.

Die Eier fand ich häufig in der Drei- oder Vierzahl beieinander liegend, doch noch öfters sah ich sie einzeln. Sie liegen in den Intercellularräumen der Zellen. Manchmal trifft man sie in sehr großer Anzahl beieinander, so fand ich in einem Zupfpräparat, dessen Objekt etwa 4 qmm groß war, einmal 36 Eier.

Auch die Aelchen sind in den Geweben zuweilen mehrere zusammen zu einem Knäuel zusammengeballt anzutreffen. Ihre Wanderungen innerhalb des Gewebes scheinen sich von dem Orte ihrer Geburt zunächst nur auf die umliegenden Zellgruppen zu erstrecken, denn man nimmt innerhalb der kranken Blattzone immer einzelne kleine Stellen wahr, die durch ihre dunklere Verfärbung eine größere innere Schadenwirkung anzeigen. Besonders intensiv ist zumeist die Dunkelung im Winkel zweier Nerven. Es hat den Anschein, als ob die Infektion von dort ausgehe und in die Flächen zwischen den divergierenden Winkelschenkeln ausstrahle. In einer solchen Annahme liegt jedoch eine Täuschung.

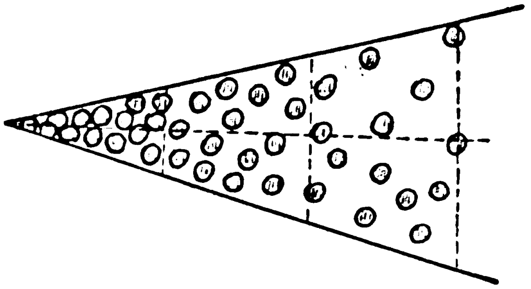


Fig. 1.

Das besagte Krankheitsbild ergibt sich bei der Voraussetzung verschiedener über ein Interkostalfeld mehr oder weniger gleichmäßig verteilter Infektionszentren unter der Berücksichtigung des Umstandes, daß die Nerven der Ausbreitung des Tätigkeitsbereiches der Aelchen eine Grenze setzen, naturgemäß ganz von selbst. Die nebenstehende Figur gibt uns hierfür eine deutliche Veranschaulichung. Es verteilen sich hier je 14 Kreisfelder auf einen gleichen Abstand innerhalb der Winkelschenkel, wobei naturgemäß ein Zusammendrängen derselben in der Nähe der Spitze des Winkels erfolgen muß. Die beigegebene Abbildung (Fig. 1) dient nur der schematischen Darstellung. In Wirklichkeit liegen die Verhältnisse so, daß mit zunehmender Konvergenz der Winkelschenkel der Nerven der auf das einzelne Aelchen kommende Aufenthalts- und Nährstoffbereich kleiner wird und damit die schädliche Wirkung rascher und intensiver in Erscheinung tritt.

Bekämpfungsversuche.

Bei der Bekämpfung der Aelchenkrankheit der Chrysanthemum tappen wir bis jetzt noch sehr im Dunkeln. Sorauer (Zeitschrift f. Pflanzenkrankh. 1902. p. 191) empfiehlt, zunächst die erkrankten Teile zu entfernen, dann die Pflanzen heller, kühler und trockener zu halten und sie so aufzustellen, daß sie einander nicht berühren. Außerdem soll man im Hinblick auf die von ihm schon angenommene Wanderung der Aelchen auf die Oberfläche der Blätter ein Gemisch von Gips und feinst pulverisierter Holzkohle streuen, um so das Feuchtwerden der Oberfläche möglichst zu verhüten.

Ob die letztere Maßnahme von durchschlagendem Erfolg ist, scheint mir zweifelhaft, denn diese Pulver werden einesteils von starken Regengüssen wieder teilweise abgewaschen, anderenteils wandern die Aelchen vornehmlich auf der gegen rasche Wasserverdunstung geschützteren Unterseite der Blätter, an der die Pulver naturgemäß weniger haften bleiben. Immerhin dürfte das Verfahren einigen Nutzen bringen.

Versuch I.

Von einem Gärtner wurde mir erzählt, daß er durch Bespritzen der erkrankten Pflanzen mit einer Lösung von 1-proz. übermangansaurem Kali in Wasser Erfolg gehabt habe. Um die Einwirkung einer derartigen Lösung auf die Tiere zu prüfen, setzte ich dieselben in einem hohlgeschliffenen Objektträger in einen Tropfen derselben ein, überdeckte den Objektträger mit einem Deckglas und beobachtete die Tiere unter dem Mikroskop. Der Versuch begann mit 14 Aelchen in 2 Objektträgern am 28. Sept. um 11^{50} Uhr morgens. Mittags, um 4, 5 und 6 Uhr waren die Tiere noch am Leben. Ein zweiter Versuch mit 10 Aelchen begann am 28. Sept. um 4^{20} nachmittags. Die Tiere waren um 6 Uhr und selbst den folgenden Tag um 9 Uhr morgens noch lebend. Der Versuch wurde dann abgebrochen. Mit höherprozentigen Lösungen habe ich leider keine Versuche angestellt.

Es wurde dann in der gleichen Weise noch die Wirkung des in der Schädlingsbekämpfung teilweise mit gutem Erfolge angewandten Chlorbaryums und weiterhin diejenige einer verdünnten Schwefelsäure geprüft.

Als Kriterium für den Tod der Tiere wurde der Mangel jeglicher Bewegung, selbst bei Zusatz einer 2-proz. Essigsäure, in Verbindung mit dem vollkommenen Ausgestrecktsein des Körpers angesehen. Bei den Männchen bleibt das Schwanzende hierbei schwach gekrümmt.

Versuch II.

Beginn am 28. September.
Das Chlorbaryum kam in $^1/_2$-, 1- und 2-proz. Lösungen in Wasser zur Verwendung.

No.	Chlorbaryum Proz.	Resultat			
		nach 2 Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 16 Stunden
1	$^1/_2$	Viele Aelchen zeigen noch Bewegung	Viele Aelchen zeigen noch Bewegung	Viele Aelchen zeigen noch Bewegung	Immer noch viele Aelchen mit Bewegung
2	1	Ebenso	Ebenso	Ebenso	Ebenso
3	2	Ebenso	Ebenso	Ebenso	Ebenso

Es zeigt sich demnach, daß die Aphelenchen selbst gegen eine 2-proz. Chlorbaryumlösung eine große Widerstandsfähigkeit besitzen.

Versuch III.

Am 28. September.
Zur Verwendung kam Schwefelsäure in verschiedenen Verdünnungen.

No.	Schwefelsäure Proz.	Resultat		
		nach 2 Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
1	$^1/_{16}$	Lebhafte Bewegung	Die meisten Tiere schwache Bewegung, manche noch etwas stärkere	Einige Tiere noch schwache Bewegung
2	$^1/_8$	Ebenso	Ebenso	Ebenso
3	$^1/_4$	Ebenso	Ebenso	Ebenso
4	$^1/_2$	Meist noch lebhafte Bewegung	Alles tot, nur 1 Tier zeigt noch schwache Bewegung	Alles tot
5	1	Schwache Bewegung	Alles tot	Alles tot

Am 29. Sept. wurde dieser Versuch mit dem nachstehenden Ergebnis wiederholt:
Bei 1-proz. H_2SO_4 nach 4 Stunden alle Tiere tot
„ $^1/_2$- „ „ „ 6 „ „ „ „
„ $^1/_4$- „ „ zeigten noch nach 24 Stunden einige Tiere Bewegung
„ $^1/_8$- „ „ „ „ „ 24 „ „ „ „
„ $^1/_{16}$- „ „ „ „ „ 24 „ „ „ „

Gegen Schwefelsäure zeigen sich demnach die Aelchen ziemlich empfindlich, doch verbietet sich die Anwendung dieses Mittels gegen die wandernden Aelchen wegen der damit schon bei 1-proz. Lösungen hervorgerufenen Verbrennungserscheinungen auf den Blättern, und weil man mit Spritzflüssigkeiten ja auch mehr oder weniger nur die Oberseite der Blätter trifft. Es wurden die Versuche mit Schwefelsäure auch weniger, um deren Brauchbarkeit zur Aelchenbekämpfung zu ermitteln, ausgeführt, sondern hauptsächlich deswegen, um den Empfindlichkeitsgrad der Tiere gegen Säure festzustellen. Aehnlich wie gegen Schwefelsäure verhalten sich die Aphelenchen gegen Salzsäure und Essigsäure.

Im scharfen Gegensatz dazu steht die Einwirkung schwach alkalischer Flüssigkeiten auf diese Tiere. Am 12. Sept. legte ich einige soeben infolge Aelchenschadens gedürrte Blatteilchen in Eau de Javelle. Die Tiere kamen auch hier aus dem Blattgewebe bald in die Flüssigkeit und schwammen munter darin umher. Am folgenden Tage dasselbe Bild. Da die Javellesche Lauge an der Luft Chlor frei macht, so setzte mich das Verhalten der Tiere in dieser Flüssigkeit sehr in Erstaunen. Ich prüfte deshalb das Reagens auf seinen Chlorgehalt in der Weise, daß ich ein Stückchen Jodkalium in Wasser auflöste und dieser Lösung etwas von der benutzten Lauge zusetzte. Die äußerst schwache, kaum wahrnehmbare Braunfärbung deutete darauf hin, daß die Flüssigkeit nur noch Spuren von Chlor enthielt. Rotes Lackmuspapier zeigte sehr deutliche alkalische Reaktion.

Die Javellesche Lauge mit den Aelchen ließ ich stehen und untersuchte sie von Zeit zu Zeit mit dem Binokular bei durchfallendem Lichte. Das Einsetzen der Tiere erfolgte, wie oben angegeben, am 12. Sept. Am 19. Sept. waren etwa $^2/_3$ der Tiere noch am Leben; am 22. Sept. schien es, als ob die Zahl der lebenden Tiere etwas zurückgegangen sei. Am 29. Sept. war noch ein kleiner Teil der Aelchen am Leben und selbst am 7. Okt., also fast 4 Wochen nach dem Einbringen der Tiere in die Lauge, zeigten noch einige derselben Lebenserscheinungen. Durch Zufüllen von Wasser wurde der verdunstete Teil der Flüssigkeit zeitweise wieder ergänzt.

Brachte ich einige Tropfen der mit Aelchen belebten Flüssigkeit auf ein Uhrglas und setzte der Flüssigkeit einige kleine Kristalle von Weinsäure zu, so trat bei den Tieren innerhalb weniger Minuten nach heftigen Bewegungen der Tod ein.

Versuch IV.

Die Beobachtungen mit der Javelleschen Lauge führten mich zu einem vergleichenden Versuche, bei dem einesteils Leitungswasser und destilliertes Wasser, zum anderen Teil destilliertes Wasser, das durch einige Tropfen Kalilauge soweit alkalisch gemacht wurde, daß rotes Lackmuspapier ganz schwache Blaufärbung zeigte, benutzt wurden. In diese drei Flüssigkeiten, die sich in je zwei Deckschälchen befanden, wurden am 22. September Aelchen in der früher geschilderten Weise durch Veranlassung des Ueberwanderns aus erkrankten Blatteilen eingesetzt. Die Aelchen zeigten in den benutzten Flüssigkeiten lebhafte Bewegung. Ich stellte die Gefäße deshalb zu einer späteren Beobachtung beiseite.

Am 29. September fand ich sämtliche Aelchen in dem destillierten Wasser und in der einen Schale mit Leitungswasser tot, in der anderen Schale, die gleichfalls Leitungswasser enthielt, waren noch viele Tiere am Leben. Das letztere Bild zeigte sich in den durch Kalilauge alkalisch gemachten Flüssigkeiten. Der Befund in dem einen Gefäß, das gewöhnliches Leitungswasser enthielt, war mir anfänglich unerklärlich, bis mir eine vorgenommene Prüfung mit Lackmuspapier zeigte, daß auch diese Flüssigkeit alkalisch reagierte, während die drei anderen, in denen die Tiere tot waren, neutral waren. Die alkalische Reaktion des Leitungswassers kam dadurch zustande, daß die Säfte der eingelegten Blattstückchen in das Wasser des Gefäßes diffundierten und dieses schwach alkalisch machten, während in den drei anderen Fällen die benutzten Blatteile wohl noch gesünder und ihre Säfte deshalb weniger alkalisch waren oder aber vielleicht etwas weniger Blattmaterial benutzt worden war. Am 7. Oktober wurden die Gefäße mit den alkalischen Flüssigkeiten nachkontrolliert. Immer noch fand man viele lebende Aelchen, ebenso am 13. Oktober und sogar noch am 28. Oktober. Der Versuch wurde dann abgebrochen.

Es geht aus ihm deutlich hervor, daß das Leben von Aphelenchus olesistus in alkalischen Flüssigkeiten lange erhalten werden kann, während die Tiere in neutralen oder gar sauren Flüssigkeiten bald absterben.

Leider erübrigte ich keine Zeit, um die diesbezüglichen Versuche auch auf Aetzkalk-haltige Flüssigkeiten auszudehnen. Für eine Klarstellung des Wertes oder Unwertes einer Bekämpfung der im Boden befindlichen Aelchen vermittelst Kalk wären solche Versuche von hohem Interesse.

Da Aphelenchus olesistus im Innern der pflanzlichen Gewebe lebt, so liegt in dem Gedanken einer Bekämpfung des Schädlings nach der von Mokrzecki vorgeschlagenen inneren Therapie der Pflanzen (s. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1903. p. 257 ff.) ohne Zweifel die beste Möglichkeit einer erfolgreichen Bekämpfung des Parasiten. Die Idee, den Pflanzen durch die Wurzeln Stoffe zuzuführen, die geeignet sind, die Lebensbedingungen der Parasiten dadurch ungünstiger zu gestalten, hat vieles für sich. Einige hierher gehörigen Versuche, die nachstehend folgen, wurden von mir ausgeführt, ohne daß sie zu einem erfolgversprechenden Ergebnis geführt hätten.

Versuch V.

Erkrankte Blätter wurden mit ihrem Stiel am 9. September nachmittags 4 Uhr in stark verdünnte Eisensulfatlösungen eingestellt. Bei Feststellung des Resultats wurden dem erkrankten Blatteile kleine Proben entnommen und in einem davon angefertigten Zupfpräparate der Lebenszustand der Aelchen ermittelt.

No.	Eisensulfat Proz.	Resultat			Zustand des Blattes am 14. Sept.
		am 10. Sept. um 4^h	am 11. Sept. um 4^h	am 14. Sept. um 4^h	
1	$^1/_{50}$	Tiere lebend	Tiere lebend	Tiere lebend	Blatt schwach gedunkelt, namentlich die Nerven
2	$^1/_{40}$	Ebenso	Ebenso	Ebenso	Ebenso
3	$^1/_{30}$	„	„	„	Blatt zeigt schwärzlichen Ton
4	$^1/_{20}$	„	„	„	Blatt fast ganz schwarz
5	$^1/_{10}$	„	„	„	Ebenso

Versuch VI.

Dasselbe Resultat bezüglich der Tiere wurde mit Pikrinsäure, die in $^1/_{70}$-, $^1/_{60}$-, $^1/_{50}$-, $^1/_{40}$-, $^1/_{30}$-, $^1/_{20}$- und $^1/_{10}$-proz. Lösungen dem Versuche diente, erzielt. Die Blätter zeigten nach dem Versuche ihre normale Farbe.

Versuch VII.

Auch Alaun in denselben Lösungsverhältnissen wie vorher blieb erfolglos. Die Blätter wurden hierdurch namentlich bei den stärkeren Lösungen etwas gebräunt.

Versuch VIII.

Impfindlicher zeigten sich die Aelchen gegen arsenige Säure. Hier waren sie in den Blättern, die in den $^{1}/_{30}$-, $^{1}/_{20}$- und $^{1}/_{10}$-proz. Lösungen standen, am 5. Tage tot, aber auch die Blätter waren bei diesen Lösungen stark verfärbt, fast gänzlich gebräunt.

Nachdem auch diese Versuche ein praktisch verwertbares Resultat nicht ergeben hatten, bin ich zu der Ueberzeugung gekommen, daß eine Bekämpfung des Parasiten innerhalb der Pflanze nicht leicht sein wird. Ich schließe mich darin vollkommen Kati Marcinowski (l. c.) an, die über diesen Punkt folgendes sagt: „Die Bekämpfung des Schädlings ist wegen seiner verborgenen endoparasitischen Lebensweise und wegen seiner großen Widerstandsfähigkeit gegen die verschiedensten Mittel mit Schwierigkeiten verknüpft. Bisher ist noch kein Verfahren bekannt, das die Aphelenchen sicher abzutöten imstande wäre, ohne gleichzeitig ihre Wirtspflanzen stark zu beschädigen. Bei einem Befall durch diese Nematoden wird daher das Hauptaugenmerk auf die Verhinderung einer weiteren Ausbreitung, also auf die Verhütung einer Ansteckung noch gesunder Pflanzen zu richten sein."

Noch wichtiger scheint mir eine sachgemäße Vorbeugung der Krankheit. Nach dieser Richtung empfiehlt Lüstner (c. l. p. 208), die durch Aelchen verseuchte Komposterde, ehe man sie benutzt, durch Erhitzen oder Uebergießen mit heißem Wasser zu sterilisieren, desgleichen alle Töpfe, in denen älchenkranke Pflanzen gezogen wurden.

Welcher Hitzegrad erreicht werden muß, um den Tod der Aelchen herbeizuführen, darüber bestehen keine Angaben. Durch die nachstehenden Versuche wurde diese Frage gelöst.

Als Wärmeapparat diente mir hierbei eine ähnliche Vorrichtung, wie sie Dewitz (Geisenheimer Ber. 1905. p. 161) bereits bei seinen Wärmeexperimenten mit Cochylis-Raupen benutzt hatte. Sie bestand aus einem Reagenszylinder, auf dessen Boden sich ein kleiner Pfropfen feuchten Filtrierpapieres befand und in den ein Präzisionsthermometer eingesenkt wurde. Der so hergestellte Zylinder wurde dann in einen größeren Erlenmeyer-Kolben so tief eingefügt, daß zwischen dem Boden des Reagensglases und demjenigen des Kolbens noch ein größerer Abstand verblieb. Der Erlenmeyer-Kolben wurde etwa $^{2}/_{3}$ mit Wasser gefüllt. Durch einen entsprechend ausgeschnittenen Korkpfropfen wurde das Reagensglas in dem Halse des Kolbens verschiebbar befestigt. Das Regulieren der Wärmeverhältnisse innerhalb des Zylinders erfolgte nach Erreichung der beabsichtigten Konstanten durch Erwärmen des Wassers im Kolben dadurch, daß man die Flamme unterstellte oder wegnahm und weiterhin durch tieferes Einsenken oder Höherstellen des Zylinders im Wasser des Kolbens. Es ließ sich so eine Genauigkeit von etwa 0,2° C erzielen.

Nach Erreichung der Konstanten wurde ein etwa 2 qcm großes Stückchen von dem älchenkranken Teile eines Chrysanthemum-Blattes auf den Boden des Reagenszylinders auf den dort befindlichen Filtrierpfropf, also in die Höhe der dort befindlichen Quecksilberkugel des Thermometers, hinabgesenkt und dort eine bestimmte Zeit unter ständiger Beobachtung der Temperatur belassen. Dann wurde das an einem dünnen Faden befestigte Versuchsobjekt herausgenommen, aus verschiedenen Teilen desselben Zupfpräparate hergestellt und diese unter dem Mikroskop genau auf das Vorhandensein lebender und toter Aelchen untersucht. Konnten in dem Präparat keine sich bewegende Tiere wahrgenommen werden, dann wurde ihm ein Tropfen einer 2-proz. Essigsäure zugesetzt. Trat dann nirgends Bewegung ein, so konnte man bei Erzielung desselben Resultates bei einer nochmaligen Kontrolle nach 4—5 Stunden oder am nächsten Tage ziemlich sicher auf den Tod der Tiere schließen, zumal wenn dieselben die charakteristische Streckung des Körpers zeigten.

Versuch IX.

No.	Datum	Temp. ° C	Dauer der Einwirkung Minuten	Sofortige Kontrolle	Nachtkontrolle
1	25. Aug. 08	45	30	Aelchen ohne Bewegung	Aelchen ohne Bewegung
2	dgl.	45	15	dgl.	dgl.
3	„	40	15	Einige mit schwacher Bewegung	Bewegung
4	„	30	15	Alle zeigten Bewegung	„
5	„	35	30	dgl.	„
6	26. Aug.	35	30	dgl.	„
7	dgl.	36	30	Bewegung bei Zusatz von Essigsäure	„
8	„	38	30	Ebenso	„
9	„	40	5	Bewegung	„
10	„	40	10	Schwache Bewegung	„
11	„	40	15	Keine Bewegung	Schwache Bewegung
12	„	40	20	dgl.	Keine Bewegung
13	„	40	30	dgl.	Ein Aelchen zeigte nach der Essigprobe noch Bewegung
14	25. Aug.	40	5	Bewegung	Bewegung
15	dgl.	40	10	„	„
16	„	40	15	„	„
17	„	40	20	Nur ein Aelchen zeigte noch Bewegung	„
18	„	40	25	Einige Tiere bei Zusatz von Essigsäure noch ganz schwache Bewegung	„
19	„	40	30	Keine Bewegung	Keine Bewegung
20	„	40	35	dgl.	dgl.
21	„	45	5	dgl.	Einige Aelchen nach der Essigprobe noch Bewegung
22	„	45	10	dgl.	Keine Bewegung
23	28. Aug.	40	20	Schwache Bewegung bei einigen Aelchen	Bewegung
24	dgl.	40	25	Noch ein Aelchen nach dem Zusatz von Essigsäure Bewegung	Keine Bewegung
25	„	40	30	Keine Bewegung	Bewegung nach Essigsäure
26	„	40	35	dgl.	Einige Aelchen nach der Essigprobe noch schwache Bewegung
27	„	43	5	dgl.	Noch 1 Tier nach der Essigprobe Bewegung
28	„	43	10	dgl.	Keine Bewegung
29	„	43	15	„	dgl.
30	„	43	20	„	„
31	„	45	5	„	„
32	„	45	10	„	„
33	„	45	15	„	„
34	„	50	5	„	„

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß die Aelchen innerhalb der Blätter sicher abgetötet werden, falls man diese 10 Minuten einer Temperatur von 43° C aussetzt. Für die Praxis ergibt sich daraus die Folgerung einer Sterilisation der Komposterde unter Erreichung dieser Temperatur in allen Teilen dieser Erde. Man benutzt zur Sterilisation am zweckmäßigsten Wasserdampf, da das Trocknen des mit heißem Wasser übergossenen Kompostes gewisse Schwierigkeiten macht, die hier wegfallen. Einen recht brauchbaren Apparat für diesen Zweck kann man sich durch Benützung eines kräftigen Fasses dadurch schaffen, daß man diesem etwa 25 cm über dem Unterboden einen Siebboden einsetzt, unter dem der Dampf eingelassen wird. Im Oberboden befindet sich eine Oeffnung für das Thermometer und eine solche für den Abzug des Dampfes. Die nebenstehende Skizze (Fig. 2) veranschaulicht die einfache Einrichtung. Wasserdampf wird in den meisten Gärtnereien aus der Dampfheizung für die Gewächshäuser zur Verfügung stehen. Um auf alle Fälle sicherzugehen, empfiehlt sich eine halbstündige Einwirkung des Dampfes von der Zeit ab, wo der oben eingesenkte Thermometer eine Temperatur von 43° C anzeigt.

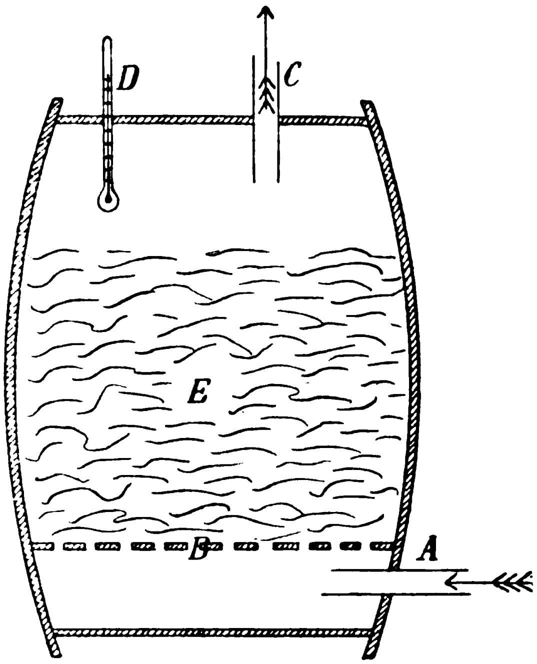


Fig. 2.

Die für die Chrysanthemum-Kulturen benutzten Töpfe sterilisiert man am besten durch kurzes Einlegen in kochendes Wasser.

Wie verhält man sich aber bei Freilandkulturen? Durch ein Begießen des Bodens mit heißem Wasser werden wir hier kaum zum Ziele kommen. Brauchbarer dürfte der Schwefelkohlenstoff sein. Ich prüfte deshalb durch einen Versuch die Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die im Blattgewebe befindlichen Aphelenchen. Hierzu wurde eine Flasche von 10 Liter Inhalt benutzt. Dahinein kamen 3 g Schwefelkohlenstoff. Dann wurden einige Aphelenchus-kranke Blattstücke, die an dünnem Bindfaden befestigt waren, eingehängt, und die Flasche verkorkt. Der Versuch kam am 8. und 9. Oktober zur Ausführung.

(Siehe Tabelle p. 670.)

Der Schwefelkohlenstoff in der angewandten Menge (3 g auf 10 Liter Raum) wirkt also erst bei längerer Einwirkung auf die in den Geweben befindlichen Aelchen tötend ein.

Gegen die Verwendung des Schwefelkohlenstoffs für unseren Zweck in der Praxis spricht der Umstand, daß dieses Insektizid wegen seiner raschen Verdunstung einerseits und des ziemlich schnellen Versinkens der Gase in die tieferen Bodenschichten andererseits für die in den oberen Bodenschichten lebenden Aelchen nur so kurze Zeit in Frage käme, daß es zweifelhaft erscheint, daß hierdurch ein durchgreifender Erfolg erzielt

Versuch X.

No.	Dauer der Einwirkung des Schwefelkohlensoffs. Stunden	Kontrolle sofort nach dem Herausnehmen	Kontrolle 12—18 Stunden nach dem Herausnehmen
1	1	Aelchen ohne Bewegung	Viele Aelchen zeigen Bewegung
2	$1^{1}/_{2}$	dgl.	dgl.
3	2	"	"
4	$2^{1}/_{2}$	"	"
5	3	"	"
6	24	"	Alle Tiere, auch nach Zusatz von Essigsäure, ohne Bewegung

werden kann. Weit zweckmäßiger dürften hier die wasserlöslichen Schwefelkohlenstoffemulsionen sein, wie sie von einigen Fabriken z. B. von Dr. Noerdlinger in Flörsheim a. M. in den Handel gebracht werden. Hier hat man beim Begießen des Bodens mit der Flüssigkeit weit weniger die oben geschilderten Nachteile zu befürchten. Es lassen sich mit diesen Emulsionen aber auch die obersten Bodenschichten gleichmäßig durchtränken. Ob man mit dem wasserlöslichen Schwefelkohlenstoff jedoch unbedingten Erfolg hat, darüber vermögen nur Versuche im Freiland auf infiziertem Terrain zu entscheiden.

Für den praktischen Versuch möchte ich dann weiterhin noch die Verwendung des Torfmulls empfehlen, den man über die Erde der Töpfe und Beete ausstreut, um dadurch einem Anspritzen von Erdteilchen durch Regenaufschlag vorzubeugen. Auch scheint mir eine genügende Weitpflanzung zur Verhinderung des gegenseitigen Berührens der Blätter und der dadurch erleichterten Infektion ratsam, eine Maßnahme, der, wie schon erwähnt, auch Sorauer das Wort redet.

Zum Schlusse soll noch darauf hingewiesen werden, daß sich bei meinen diesjährigen Beobachtungen der Aphelenchus-Krankheit der Chrysanthemum ein großer Unterschied in dem Befall und der Intensität des Auftretens bei den verschiedenen Sorten ergab. In unseren Anstalts-Topfkulturen zeigte sich am stärksten erkrankt: Nobel; etwas weniger: W. Wells, Mad. Carnot und Terra Cotta. Nicht befallen waren: Harrison Dick, E. Milcham, La Gracieuse, Marstham Yellow und Viviand Morel.

Von den Freilandkulturen waren in einer hiesigen Gärtnerei sehr stark erkrankt die Sorte: La Neige. Ziemlich widerstandsfähig zeigten sich: Soleil d'Octobre, Gustav Grunewald, Thomas Waren und Alice de Monaco.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Aphelenchus olesistus gelangt aktiv bei seinen auf der Oberfläche der Pflanzenteile erfolgenden Wanderungen und passiv mit den Erdteilchen, die durch Schlagregen angespritzt werden, auf die Chrysanthemumblätter.

2) Das Einwandern des Nematoden in die Chrysanthemumpflanzen erfolgt vornehmlich durch Gewebeverletzungen. Solche entstehen durch tierische Blattschädlinge, besonders aber durch das Ausbrechen der achselständigen Geiztriebe.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

3) Die Ausbreitung des Schädlings in den Geweben geschieht durch Wanderungen innerhalb der Interzellularräume der Zellen. Lückenlose Zellverbände werden hierbei gemieden. Die Gefäße dienen niemals als Wanderungsbahnen.

4) Die Wanderungen der Tiere auf der Oberfläche der Blätter sind sehr häufig. Sie erfolgen jedoch nur, wenn die Außenteile der Blätter benetzt sind.

5) Die älteren Tiere scheinen ein besonders großes Wanderungsbedürfnis zu besitzen.

6) Die Eier werden von den Weibchen in den peripheren Teilen der Infektionsgebiete eines Blattes abgelegt, wodurch den auskommenden Larven noch unverbrauchte Nahrungsbezirke sofort zur Verfügung stehen.

7) Die Eier werden in den Interzellularräumen meist in der Einzahl angetroffen, zuweilen liegen sie aber auch in größerer Zahl beieinander.

8) Eine Bekämpfung der Aelchen durch Bespritzen der erkrankten Pflanzen mit 1-proz. übermangansaurem Kali bleibt ohne Erfolg.

9) Gegen Säuren, z. B. Schwefelsäure, Salzsäure, Essigsäure, Weinsäure zeigen sich die Aphelenchen ziemlich empfindlich, jedoch leiden bei Säurebehandlung leicht auch die Pflanzen.

10) Im scharfen Gegensatz dazu steht das Verhalten dieser Tiere gegen alkalische Flüssigkeiten. Darin vermögen sie sich lange Zeit (bis zu 4 Wochen) lebend zu erhalten.

11) Die Versuche der Bekämpfung der Aelchen durch innere Therapie vermittelst Eisensulfat, Pikrinsäure, Alaun waren erfolglos. Wirkungsvoller zeigte sich arsenige Säure, doch werden dadurch auch die Pflanzen abgetötet.

12) Am besten wird Aphelenchus durch eine der Krankheit vorbeugende Behandlung der Pflanzerde vermittelst heißen Dampfes bekämpft.

13) Ein 10 Minuten dauerndes Einwirken einer Temperatur von 43° C tötet alle in den Blättern befindlichen Aphelenchen sicher ab.

14) Zur vorbeugenden Bekämpfung der Schädlinge eignet sich weiterhin der Schwefelkohlenstoff. Bei einer Verwendung von 3 g dieses Stoffes auf 10 Liter Erde muß man ihn aber in einem geschlossenen Gefäß 24 Stunden einwirken lassen, um alle Aelchen abzutöten. Ratsam ist die Verwendung von 5 g. Auf freiem Lande dürfte die Verwendung des wasserlöslichen Schwefelkohlenstoffs mehr am Platze sein, da man mit ihm die oberflächlichen Bodenschichten besser durchfeuchten kann.

Nachdruck verboten.

Die Assimilation von Ammon-, Nitrat- und Amidstickstoff durch Mikroorganismen.

Von **Steven Bierema.**

In der Literatur liegen verschiedene Angaben vor, die dafür sprechen, daß der durch Mikroorganismen bewirkten Assimilation der einfacheren Stickstoffverbindungen (Amid-, Ammon- und Salpeterstickstoff) nicht nur vom theoretischen, sondern auch vom praktischen Standpunkte aus, eine nicht unerhebliche Bedeutung beigemessen werden muß. Um weitere Aufklärung über die hierbei in Betracht kommenden Punkte zu erlangen, führte ich auf Veranlassung von Herrn Privatdozent Dr. Löhnis im bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Leipzig die nachstehend besprochenen Untersuchungen aus, die speziell auch darauf gerichtet waren, geeignete Anreicherungsverfahren aufzufinden. An dieser Stelle werde ich mich darauf beschränken, lediglich über die tatsächlichen Befunde zu referieren, während ich in bezug auf die Erörterung der einschlägigen Literatur, sowie einiger sonstigen Gesichtspunkte von mehr untergeordneter Bedeutung auf meine unter dem gleichen Titel erschienene Inauguraldissertation (Philosophische Fakultät, Leipzig 1909) verweisen muß.

Qualitative Prüfung von Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen.

Als Stickstoffnahrung für die Mikroorganismen wurden folgende Verbindungen geprüft: Natriumnitrat, Calciumnitrat, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumkarbonat, Magnesium-Ammoniumphosphat, Ammoniumchlorid, Formamid, Acetamid, Harnstoff, Guanidinkarbonat, Harnsäure, Hippursäure, Leucin, Tyrosin, Asparagin, Asparaginsäure, ameisensaures, essigsaures, buttersaures, oxalsaures, bernsteinsaures, milchsaures, apfelsaures, weinsaures und zitronensaures Ammonium.

Daneben kamen als Kohlenstoffquellen zur Anwendung: Methan, Kohlenoxyd, Kohlensäure, Aethylalkohol, n-Butylalkohol, Glyzerin, Mannit, Aceton; von den Kohlehydraten: Stärke, Cellulose, Dextrin, Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Traubenzucker, Fruchtzucker, Galaktose, Arabinose, Xylose; von den organischen Säuren als Salze das Formiat, Acetat, Butyrat, Oxalat, Succinat, Laktat, Malat, Tartrat und Citrat.

Ich brauche wohl nicht hervorzuheben, daß solchen Versuchen über die Assimilierbarkeit und Nährfähigkeit von Stickstoff- und Kohlenstoffquellen kein absoluter Wert zukommt. Vor allem schon deshalb nicht, weil mit variablen Gemischen in Rohkulturen gearbeitet wurde. Außerdem sind bekanntlich oft verschiedene Nebenumstände maßgebend, die auch bei Verwendung von Reinkulturen erheblich modifizierend einwirken können 1).

Meine Versuche wurden sämtlich bei 18—20° C durchgeführt, also bei einer Temperatur, bei der sich sowohl Dünger- wie Bodenorganismen im allgemeinen am besten zu entwickeln pflegen.

---

1) Vergl. z. B. die von Laborde, Annales de l'Institut Pasteur, T. XII. 1898. p. 517, mitgeteilte Beobachtung, derzufolge die Hefe bei 28° den Ammoniakstickstoff stärker als den organisch gebundenen ausnutzt, während bei 36° das umgekehrte Verhalten eintritt.

Als Ausgangsflüssigkeit für die Bereitung der Nährlösungen diente destilliertes Wasser mit einem Zusatz von 0,5 Prom. K_2HPO_4, 0,02 Prom. $MgSO_4$, 0,02 Prom. NaCl und einer Spur $FeCl_3$. Um einen Anhalt zu haben zur Vergleichung der Nährlösungen in bezug auf die Mengen Stickstoff, die innerhalb einer bestimmten Zeit assimiliert werden konnten, wurden von den verschiedenen Stickstoff- und Kohlenstoffquellen den Nährlösungen in bezug auf den Stickstoff resp. Kohlenstoff äquivalente Mengen zugesetzt, und zwar von den Stickstoffverbindungen so viel, daß die Nährlösung 0,3 Prom. Stickstoff enthielt, also von Natriumnitrat z. B. 1,84 g pro Liter, von Ammoniumsulfat 1,4 g pro Liter etc., von den Kohlenstoffverbindungen 0,4 Proz. Kohlenstoff, entsprechend einer 1-proz. Traubenzuckerlösung. Wo zwei Kohlenstoffverbindungen nebeneinander verabreicht wurden, kam von beiden die Hälfte zur Anwendung. Absichtlich wurde das Verhältnis zwischen Stickstoff und Kohlenstoff so weit bemessen, um sicher zu sein, daß kein Mangel an Kohlenstoff die Assimilation der Stickstoffquelle hemmen konnte. Nur in den Fällen, wo eine Stickstoffverbindung sowohl als Stickstoff- wie als Kohlenstoffquelle in Anwendung kam, wurde eine willkürlich bemessene größere Menge, ungefähr 0,5 Proz., der Lösung zugesetzt.

Die Versuche wurden sowohl in flacher, ungefähr 1 cm hoher (in Erlenmeyer-Kolben), als auch in hoher, ungefähr 8 cm hoher Schicht (in Reagensgläsern) ausgeführt.

Die Nährlösungen wurden mit einer kleinen Menge Erde geimpft. Bei den später zu beschreibenden Anhäufungsversuchen wurde immer aus den als geeignet befundenen Nährlösungen in Kolben mit der entsprechenden Nährflüssigkeit übergeimpft. Das Urteil über die Brauchbarkeit einer Nährlösung stützt sich demnach auf die Ergebnisse der Originalkulturen, sowie auf diejenigen der nachfolgenden Abimpfungen.

A. Ueber die mit den verschiedenen Stickstoffverbindungen erhaltenen Resultate ist folgendes zu bemerken:

Natriumnitrat erwies sich in Kombination mit den meisten der untersuchten Kohlenstoffquellen als vorzügliche Stickstoffquelle für Bodenmikroorganismen. In Verbindung mit Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin, Rohrzucker + Glyzerin und Calciumlaktat war nach 5 Tagen die Diphenylaminreaktion verschwunden. Bei Traubenzucker war eine sehr starke Schimmelpilzvegetation, in den anderen Nährlösungen nur Bakterienentwickelung in Gestalt einer die Flüssigkeit bedeckenden Haut vorhanden.

Weniger günstig, aber immerhin noch gut, erwiesen sich mit Natriumnitrat Fruchtzucker, Stärke, Maltose und Calciumsuccinat; hier war die Diphenylaminreaktion nach 13 Tagen verschwunden. Calciumacetat erwies sich viel weniger wirksam.

Sehr gut wirkten Calciumacetat und Traubenzucker vereint. Bei gleichzeitiger Anwendung von Calciumlaktat und Fruchtzucker war die Bakterienentwickelung ebenso stark wie bei Benutzung von beiden einzeln.

Bei all diesen Versuchen mit dem physiologisch stark alkalischen Natriumnitrat war die Reaktion, die am Anfang neutral war, am Ende des Versuches, sowohl in flacher als auch in hoher Schicht, mit Ausnahme der Rohrzucker-Glyzerinlösung, welche am Ende des Versuches nach 18 Tagen sauer reagierte, neutral oder mehr oder weniger alkalisch.

Vom Calciumnitrat läßt sich in der Hauptsache dasselbe sagen wie vom Natriumnitrat: Allein scheint es, wahrscheinlich wohl infolge seines weniger stark ausgesprochenen physiologisch-basischen Charakters, den Mikroorganismen in der Kulturflüssigkeit noch mehr zuzusagen als das vorher besprochene Nitrat. Wie dort, zeigte sich auch hier die Kombination mit Glyzerin, Traubenzucker und Calciumlaktat als besonders gut geeignet. Außerdem erwiesen sich als günstig: Mannit, Dextrin, Calciumsuccinat und Xylose. Bei diesen allen war nach 9 Tagen die Diphenylaminreaktion verschwunden. Ebenso wie bei der Stickstofffixierung [1]), erwies sich auch bei der Salpeterassimilation Arabinose viel weniger wirksam als die stereoisomere Xylose.

Weniger intensive Entwickelung ermöglichten Milchzucker und Calciumacetat. Das letztere zeigte sich hier aber entschieden wirksamer als in Verbindung mit Natriumnitrat. Cellulose (chemisch rein) war viel weniger günstig als Stroh; hier war schon nach 16 Tagen die Flüssigkeit mit einer ziemlich starken braunen Decke überzogen.

Sehr günstige Resultate bekam ich bei Anwendung von Glyzerin + Rohrzucker; desgleichen, wenn auch nicht ganz so gute, bei Gebrauch von Fruchtzucker + Calciumlaktat, Milchzucker + Calciumsuccinat und Mannit + Glyzerin.

Wie bei Natriumnitrat, so hatten sich auch bei Calciumnitrat vorwiegend (obwohl infolge seines weniger basischen Charakters viel weniger ausgesprochen) Bakterien entwickelt, während Traubenzucker und Calciumacetat hier wie dort massenhaft Schimmelpilze zur Entstehung kommen ließen.

Ammoniumnitrat erwies sich weniger geeignet für die Assimilation als die beiden vorher besprochenen Nitrate. Es gelingt nicht so leicht, das Ammoniak wie auch das Nitrat vollständig zum Verschwinden zu bringen; in Reinkultur ist mir dies nie gelungen, wie ich später besprechen werde. In Mischkulturen ließ sich dieses aber wohl erreichen, am besten durch die gleichzeitige Anwendung von zwei Kohlenstoffquellen. Bei Anwendung von Rohrzucker + Glyzerin und Fruchtzucker + Calciumlaktat waren nach 16 Tagen die Reaktionen mit Diphenylamin und mit Nesslers Reagens verschwunden und eine starke Decke auf der Flüssigkeit, die schwach alkalisch reagierte, zu konstatieren.

Bei Gebrauch von Traubenzucker als Kohlenstoffquelle entwickelte sich eine sehr starke Schimmelpilzdecke: nach 13 Tagen war die Diphenylaminreaktion verschwunden, mit Nesslers Reagens noch eine schwache Reaktion vorhanden, die nach 20 Tagen verschwand; die anfangs neutrale Nährflüssigkeit reagierte am Ende des Versuches schwach alkalisch (in hoher Schicht war die Endreaktion sauer). Aehnliches war zu beobachten bei Verwendung von Dextrin, Calciumlaktat und Maltose. Es zeigte sich bei schwach alkalischer Reaktion eine kräftige Bakterienentwickelung; die Diphenylaminreaktion war nach 5 Tagen verschwunden, die Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens nach 20 Tagen noch sehr schwach vorhanden. Später, bei der Erörterung der Versuche mit Reinkulturen, wird hierauf zurückzukommen sein.

Arabinose erwies sich bei Ammoniumnitrat noch weniger wirksam als bei Calciumnitrat; nur eine schwache Schimmelpilzentwickelung bei schwach saurer Reaktion war zu verzeichnen. Mit Glyzerin gab das Ammoniumnitrat eine wenig geeignete Nährlösung ab[1]). Ammoniumnitrat sowie die Ammoniumsalze der geprüften organischen Säuren wurden bei Zugabe von Glyzerin ungefähr gleich stark ausgenutzt, aber entschieden viel weniger als das Natrium- oder Calciumnitrat bei derselben Kohlenstoffquelle. Auch Mannit zeigte hier keine günstige Wirkung; Mannit und Glyzerin zusammen verabreicht, erwiesen sich kaum wirksamer als die beiden einzeln; sogar nach 32 Tagen war von einer Decke auf der Flüssigkeit kaum die Rede.

---

[1]) Pillai, Untersuchungen über den Einfluß der Düngung und anderer Faktoren auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. [Diss.] Leipzig 1908. p. 28, 29.

Ammoniumnitrat wurde in Kombination mit Calciumacetat ziemlich gut assimiliert: Nach 5 Tagen war die Diphenylaminreaktion verschwunden, aber noch eine starke Reaktion mit Nesslers Reagens vorhanden, die nach 20 Tagen auf ein Minimum reduziert war.

Milchzucker war etwas weniger wirksam; der Zusatz von Calciumsuccinat wirkte fördernd auf die Entwickelung.

Bei Verwendung von Milchzucker und Calciumsuccinat nahm die Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens eher ab als diejenige mit Diphenylamin; hier schien also das Ammoniak besser ausgenutzt zu werden.

Das Ammoniumsulfat sagt als physiologisch saures Salz im allgemeinen den Schimmelpilzen besonders zu. In den Versuchskolben mit Traubenzucker, Dextrin, Glyzerin, Milchzucker, Maltose und Mannit entwickelte sich erst eine Bakteriendecke, die aber alsbald einer starken Schimmelpilzentwickelung Platz machen mußte. Namentlich bei Traubenzucker und Dextrin trat diese Erscheinung besonders deutlich hervor. Die anfangs neutrale Reaktion wurde stark sauer. Die Ammoniakreaktion war nach 12 Tagen verschwunden. Bei Verwendung von Calciumlaktat, Rohrzucker + Glyzerin, Fruchtzucker + Calciumlaktat und Mannit + Glyzerin blieb die Reaktion schwach alkalisch. Es entwickelte sich überall eine starke Bakteriendecke, besonders bei Rohrzucker + Glyzerin und Fruchtzucker + Calciumlaktat. Nach 16 Tagen war aber noch eine, wenn auch geringe Ammoniakreaktion vorhanden. Weniger gut wurde das Ammoniak bei Gegenwart von Xylose assimiliert. Arabinose, Calciumsuccinat und Calciumacetat erwiesen sich gleichfalls minder günstig. Ein Auftreten von Salpeter- oder salpetriger Säure war in keinem Fall nachzuweisen.

Bei Verwendung von Ammoniumkarbonat allein mit den nötigen Nährsalzen war von einer Entwickelung kaum etwas zu sehen. Mit einer Reihe von Kohlenstoffquellen wurde aber das Ammoniumkarbonat gut assimiliert, so mit Rohrzucker, Rohrzucker + Glyzerin, Dextrin und Milchzucker. Nach 5 Tagen war schon kein Ammoniak mehr nachzuweisen. Kaum weniger gut wirkten Glyzerin, Mannit, Maltose, Kaliumcitrat, Stärke und Aethylalkohol[2]). Eine Zugabe von Aceton setzte die Wirkung des Mannits herab. Maltose und Kaliumcitrat, zusammen verabreicht, erwiesen sich günstiger als beide einzeln. Bei Verwendung von Maltose allein blieb die Reaktion wie im Anfang, nämlich schwach alkalisch. Wurde aber außerdem Kaliumcitrat gegeben,

---

1) **Nägeli**, Sitzungsber. d. mathem.-physik. Klasse d. kgl. bayer. Akad. d. Wissensch. zu München. Bd. X. 1880. Heft 3. p. 281 erzielte mit Ammoniumnitrat in Verbindung mit Glyzerin keine ungünstigeren Resultate als mit den Ammoniumsalzen der organischen Säuren.

2) Die Hautbildung war im allgemeinen bei Ammoniumkarbonat geringer als bei den vorher besprochenen Stickstoffquellen, wohl aus Mangel an Stickstoff, weil beim Stehen an der Luft ein Teil des Ammoniaks verloren geht. Vergl. **Gerlach** und **Vogel**, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 613, 615.

so zeigte die Flüssigkeit nach dem Verschwinden der Ammoniakreaktion eine stark alkalische Beschaffenheit; Kaliumcitrat scheint also auch in Gegenwart von Maltose assimiliert zu werden.

In allen Versuchen mit Ammoniumkarbonat kamen lediglich Bakterien und Hefen zur Entwickelung, auch in den Versuchskolben mit saurer Endreaktion, wie sie bei Verwendung von Glyzerin und Rohrzucker + Glyzerin wahrzunehmen war, während alle anderen Nährflüssigkeiten mehr oder weniger alkalisch blieben. Eine Bildung von salpetriger oder Salpetersäure war, wie zu erwarten, auch hier nirgends zu verzeichnen.

Magnesiumammoniumphosphat ist trotz seiner äußerst geringen Löslichkeit eine der besten Stickstoffquellen. Vielleicht liegt gerade in der Schwerlöslichkeit ein Vorzug, insofern als es dadurch möglich wird, daß bei der fortschreitenden Assimilation entsprechende Mengen in Lösung gehen, wodurch die Konzentration an diesem Nährstoff immer gleich bleibt. In Kombination mit den meisten der untersuchten Kohlenstoffquellen war schon nach einigen Tagen sehr starke Deckenbildung zu beobachten, so mit Rohrzucker, Milchzucker, Mannit, Maltose, Dextrin und Calciumlaktat; schon nach 5 Tagen war die Ammoniakreaktion verschwunden. Glyzerin und Stärke erwiesen sich etwas weniger wirksam. Die Wirkung des Rohrzuckers wurde durch Zugabe von Glyzerin herabgesetzt; die Reaktion war am Ende des Versuches stark sauer. Dagegen wurde der Nähreffekt des Mannits weder durch Glyzerin- noch durch Acetonzugabe herabgedrückt.

Ammoniumchlorid wurde ohne Neutralisierungsmittel angewandt: die stets auftretende stark saure Reaktion wird in den meisten Fällen die Assimilation der Nährstoffe wohl gehemmt haben. Daher war auch vorwiegend Schimmelpilzentwickelung zu beobachten; beinahe überall trat aber zuerst Bakterienvegetation auf. Trotz der stark sauren Reaktion bekam ich mit Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle auf der Nährflüssigkeit eine sehr starke Decke verschiedener Schimmelpilze; nach 16 Tagen war die Ammoniakreaktion vollständig verschwunden. Auch Rohrzucker allein ermöglichte eine gute Entwickelung[1]). Dasselbe gilt für Glyzerin als alleinige Kohlenstoffquelle. In einem Falle trat bei Anwendung von Glyzerin Schimmelpilzentwickelung auf bei stark sauer werdender Reaktion, während in einem anderen Versuchskolben unter im übrigen gleichen Umständen vorwiegend Bakterien bei schwacher Alkalität der Flüssigkeit auftraten (in beiden Fällen war die Anfangsreaktion neutral).

Eine ziemlich gute Assimilation war zu verzeichnen in den Versuchen mit Mannit, Maltose, Traubenzucker und Milchzucker. Galaktose war weniger günstig; ein Zusatz von Aethylalkohol wirkte fördernd auf die Entwickelung ein. Calciumsuccinat war ebenfalls recht gut brauchbar. Die Reaktion blieb hier alkalisch; die Bildung einer kräftigen Bakteriendecke war zu konstatieren. Bei Dextrin war die Entwickelung nicht sehr günstig, wurde aber durch Zusatz von Kaliumoxalat sehr befördert. Daß das Kaliumoxalat in Gegenwart von Dextrin verwertet wurde, geht daraus hervor, daß, während bei Dextrin allein eine starke Säuerung auftrat, die Reaktion bei gleichzeitiger Anwendung von Dextrin und Kaliumoxalat am Ende des Versuches sehr stark alkalisch war.

Sowohl Formamid als Acetamid erwiesen sich mit keiner der untersuchten Kohlenstoffquellen als eine sehr gute Nahrung für Bodenorganismen. Acetamid ist imstande, allein als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle zu dienen [1]). Formamid dagegen scheint nicht zugleich den Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf der Mikroorganismen decken zu können, oder es besitzt doch jedenfalls diese Fähigkeit in einem bedeutend geringeren Grade als Acetamid. Im allgemeinen wird das Acetamid besser assimiliert als das Formamid. Während das Acetamid, soweit es nicht assimiliert wurde, schon nach 18 Tagen vollständig in Ammoniak übergegangen war, fand sich bei Formamid unter im übrigen gleichen Bedingungen noch nach 6 Wochen weitaus der größte Teil des Stickstoffes in unveränderter Form vor.

---

[1]) Nägeli, l. c. p. 287, 288 bezeichnet Salmiak mit Zucker gleichfalls als eine ausgezeichnete Nahrung.

Mit einer geeigneten Kohlenstoffquelle können beide Säureamide noch verhältnismäßig gut assimiliert werden. Bei Formamid bekam ich mit Calciumacetat, Calciumlaktat, Glyzerin und Rohrzucker eine ziemlich kräftige Entwickelung. Rohrzucker + Glyzerin war nicht günstiger als beide Substanzen einzeln. Traubenzucker ließ in neutraler Lösung viele Schimmelpilze zur Entwickelung kommen. Calciumcitrat und Calciumtartrat ließen eine schwache Decke entstehen; nach 6 Wochen war noch Formamid als solches vorhanden [2]). Der Zusatz von Maltose resp. Dextrin zum Citrat resp. Tartrat wirkte nicht fördernd auf das Wachstum der Mikroorganismen ein.

Eine ziemlich gute Entwickelung zeigten die Versuchskolben mit Acetamid bei Zusatz von Rohrzucker und Glyzerin, noch besser bei gleichzeitiger Benutzung von beiden. Auch Traubenzucker war als ziemlich gut zu bezeichnen. Desgleichen Dextrin + Calciumtartrat und Traubenzucker + Calciumacetat.

Harnstoff allein scheint nicht zugleich als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle dienen zu können. In dem Versuchskolben war überhaupt keine Entwickelung zu sehen.

Bei meinen Versuchen mit Harnstoff konnte ich bei gleichzeitiger Verwendung geeigneter Kohlenstoffquellen im allgemeinen eine gute Entwickelung konstatieren. Ueberall trat innerhalb kurzer Zeit eine starke Ammoniakreaktion auf, die je nach der Güte der Kohlenstoffquelle allmählich abnahm. Besonders gut wirkten Mannit, Maltose und Traubenzucker. Die beiden zuerst genannten Substanzen zeigten bei neutraler Reaktion eine kräftige Bakterien-, Traubenzucker dagegen eine starke Schimmelpilzentwickelung. Milchzucker, Dextrin und Calciumlaktat waren gleichfalls als brauchbare Kohlenstoffquellen zu verzeichnen. Fruchtzucker gab eine weniger gute Entwickelung, die aber durch gleichzeitige Beigabe von Calciumlaktat sehr gefördert werden konnte; dabei war die Lösung nach 9 Tagen schwach alkalisch, während Fruchtzucker allein zu einer ziemlich starken Säuerung Veranlassung gab. Rohrzucker und Glyzerin zeigten sich wenig wirksam. Bei Rohrzucker trat eine starke Gärung und Säuerung auf.

Guanidin (als Karbonat angewendet) zeigte in allen Versuchskolben eine nur mäßig ernährende Wirkung. Allein mit den nötigen Mineralien verabreicht war kaum eine Spur von Entwickelung zu konstatieren [3]). Die abbauende Tätigkeit der Mikroorganismen geht bei

---

[1]) Vergl. Nägeli, l. c. p. 280.

[2]) Angaben über das zum Nachweis des Form- und Acetamids benutzte Verfahren s. Abschn. III. p. 695.

[3]) Nach Czapek, Hofmeisters Beiträge zur chem. Phys. u. Path. Bd. I. 1902.

Guanidinkarbonat langsam vor sich; bei alleiniger Verwendung dieser Stickstoffquelle zeigte das Nesslersche Reagens nach 22 Tagen noch kaum eine Reaktion. Bei Zusatz anderer Kohlenstoffquellen ging die Zersetzung bedeutend schneller vor sich. Die beste Entwickelung bekam ich bei Verwendung von Calciumlaktat und Rohrzucker + Glyzerin, weniger gut mit Glyzerin, Mannit und Traubenzucker. Gleichzeitige Anwendung von Glyzerin und Mannit zeigte keine Aenderung der Resultate. Die Reaktion blieb überall alkalisch; Entwickelung von Schimmelpilzen war nirgends zu sehen.

Die Harnsäure wurde nicht neutralisiert, weil sie kaum sauer reagiert. Auch die Harnsäure wird, wenn auch nicht ganz so energisch wie der Harnstoff, so doch vollständig in Ammoniumkarbonat umgesetzt. Gerade wie der Harnstoff scheint auch die Harnsäure den Bedarf der Mikroorganismen an Stickstoff und Kohlenstoff zugleich nicht decken zu können; jedenfalls bekam ich mit dieser Säure allein kaum eine Entwickelung. Die in dem Impfmaterial vorhandene Menge organischer Substanz dürfte ausgereicht haben für die die Umsetzung in Ammoniak veranlassenden Organismen.

Im allgemeinen darf man wohl sagen, daß die Harnsäure in Verbindung mit vielen Kohlenstoffquellen eine den Bakterien und Schimmelpilzen sehr zusagende Nahrung darstellt[1]. Eine recht gute Entwickelung bekam ich in denjenigen Versuchskolben, in denen neben der Harnsäure Rohrzucker + Glyzerin gegeben worden war. Etwas weniger gut gediehen die Kulturen mit Rohrzucker, Galaktose, Mannit, Calciumlaktat, Glyzerin oder Maltose. Bei Verwendung von Kaliumcitrat, Rohrzucker + Aceton und Stroh war nur eine sehr geringe Entwickelung zu verzeichnen; Aceton hatte also den Nähreffekt des Rohrzuckers herabgesetzt. In den Versuchskolben trat manchmal nach einigen Tagen eine saure Reaktion auf, die vielleicht daher rührt, daß bei der Spaltung der Harnsäure über Harnstoff zu Ammoniak Oxalsäure gebildet wird. Jedenfalls zeigte die mikroskopische Prüfung die Anwesenheit von Calciumoxalatkristallen.

Die Hippursäure bietet in Verbindung mit mancher Kohlenstoffquelle eine vorzügliche Stickstoffnahrung, die sowohl in Roh- als auch in Reinkulturen restlos assimiliert werden kann, wie ich später bei Erörterung der quantitativen Versuche dartun werde. In meinen Versuchen trat nie eine saure Reaktion auf: stets war sie mehr oder weniger alkalisch, während die Anfangsreaktion neutral oder schwach alkalisch war. Infolge der durch die bald auftretende Ammoniakbildung veranlaßten Alkalität der Nährlösung traten bei den Versuchen in flacher Schicht nur wenig Schimmelpilze auf. In hoher Schicht aber, wo gewöhnlich nur schwache alkalische Reaktion herrschte, waren sie neben Bakterien stark wahrzunehmen. Eine sehr gute Entwickelung war zu verzeichnen bei Verwendung von Rohrzucker (wobei eine schöne „Iriserscheinung“ zur Beobachtung kam), Galaktose, Mannit, Traubenzucker, Milchzucker und Fruchtzucker. Glyzerin erwies sich weniger geeignet, sehr gut dagegen bei gleichzeitiger Beigabe von Rohrzucker. Calciumlaktat + Fruchtzucker ergab keinen Unterschied im Wachstum. Die Wirksamkeit des Acetons wurde durch eine Mannitzugabe sehr erhöht. Cellulose gab eine langsame und geringe Entwicke-

---

p. 538; Bd. II. p. 547; 1903. Bd. III. p. 47 ist das Guanidin (in salzsaurer Bindung) für Aspergillus niger brauchbar.

[1] Für die Hefen bezeichnet A. Mayer, Gärungschemie. p. 134 die Harnsäure als weniger geeignet.

lung; noch schlechter wirkten Kaliumcitrat und Natriumoxalat: dies dürfte indessen, wenigstens teilweise, auch auf die sehr stark hervortretende alkalische Reaktion zurückzuführen sein.

Leucin bietet im Gegensatz zu den zuletzt behandelten, weniger gut ernährenden Stickstoffverbindungen den Mikroorganismen eine ganz hervorragende Nahrung dar und kann sowohl als Stickstoff- wie auch als Kohlenstoffquelle dienen.

Milchzucker und Fruchtzucker erwiesen sich bei meinen Versuchen in Verbindung mit Leucin gerade so wirksam wie Rohrzucker. Auch Stärke wirkte sehr gut. Bei Calciummalat entwickelte sich trotz deutlich alkalischer Reaktion eine starke Schimmelpilzdecke. Etwas weniger gut ernährten Glyzerin, Mannit und Maltose. Glyzerin gemeinsam mit Rohrzucker war weniger günstig als die zuletzt genannte Substanz allein. Auch eine Zugabe von Maltose zu Glyzerin wirkte nicht fördernd.

Die Reaktion blieb in flacher Schicht überall alkalisch. Außer in den Versuchen mit Calciummalat, wo nur Schimmelpilze, und mit Rohrzucker, wo neben einer Bakteriendecke auch einige Schimmelpilze auftraten, kamen in den verschiedenen Lösungen ausschließlich Bakterien zur Entwickelung.

Auch Tyrosin erwies sich als eine gute, wenn auch nicht ganz so gute Nahrung wie Leucin. Allein dargeboten ließ es eine bedeutend geringere Entwickelung als Leucin allein zustande kommen. Klebs[1]) nennt Tyrosin allein eine gute Nahrung. Nach Emmerling[2]) ist es für Aspergillus niger untauglich, während Went[3]) Tyrosin allein, im Gegensatz zum Leucin, für Monilia sitophila tauglich fand.

Eine sehr gute Entwickelung zeigte sich in denjenigen Kolben, in denen neben Tyrosin Milchzucker, Mannit, Traubenzucker oder Calciumlaktat gegeben war. Nach 18 Tagen war hier überall nur noch eine Spur Tyrosin[4]) vorhanden; auch das Nesslersche Reagens ergab mit Ausnahme des mit Mannit beschickten Kolbens keine Reaktion. Rohrzucker zeigte sich hier weniger wirksam; nach 18 Tagen war noch ziemlich viel Tyrosin vorhanden. Glyzerin wirkte etwas vorteilhafter. Beide gemeinsam geboten, zeigten sich dagegen sehr günstig und waren den besten Kohlenstoffquellen, wie Milchzucker, gleichzustellen. Der Nähreffekt des Mannites wurde durch Zugabe von Aceton herabgesetzt; zwar war das meiste Tyrosin nach 18 Tagen zersetzt worden, aber dafür bedeutend mehr Ammoniak vorhanden als in dem Kolben mit Mannit allein. Kaliumcitrat und Calciumbutyrat ernährten schlecht; nach 18 Tagen zeigte sich noch eine sehr starke Tyrosinreaktion.

Bei der Durchführung der betreffenden Versuche fiel es auf, daß Tyrosin Schimmelpilzen mehr zuzusagen scheint als Leucin; jedenfalls zeigte sich in den Tyrosinlösungen trotz alkalischer Reaktion stets eine bedeutend stärkere Schimmelpilzentwickelung, als dies bei Leucin der Fall war.

Asparagin wird sowohl allein als auch in Verbindung mit vielen Kohlenstoffquellen gern aufgenommen[5]).

Bei Verwendung von Kaliumoxalat als Kohlenstoffquelle entwickelte sich in meinen Versuchen nur eine sehr schwache Decke, wohl infolge

---

[1]) Klebs, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXIII. 1899. p. 513.

[2]) Emmerling, O., Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXV. 1902. p. 2289.

[3]) Went, F. C., Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XVI. 1896. p. 158.

[4]) Angaben über das zum Nachweis des Tyrosinstickstoffes benutzte Verfahren. S. Abschn. III.

[5]) Vergl. Nägeli, l. c. p. 280, 287, 288; Mayer, A., Gärungschemie. p. 134.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

der stark alkalischen Reaktion, die auch schon durch den Abbau des Asparagins gewöhnlich auftritt. Wurde neben dem Oxalat noch Dextrin zugesetzt, so trat eine starke Deckenbildung auf. Ausgezeichnet wirkte Asparagin mit Rohrzucker[1]). Kaum weniger gut erwiesen sich aber Glyzerin, Dextrose, Maltose, Rohrzucker + Glyzerin, Calciumlaktat und Calciummalat[2]). Auch Calciumbutyrat war recht geeignet. Als weniger wirksam erwiesen sich Milchzucker, Galaktose, Dextrin, Dextrin + Oxalat und Mannit + Aceton. Oxalat hatte die Wirkung des Dextrins nicht beeinträchtigt. Bei Verwendung von Cellulose als Kohlenstoffquelle trat nur sehr langsam eine Deckenbildung auf.

Die Asparaginsäure wurde wegen ihrer stark sauren Reaktion mit einer entsprechenden Menge Na_2CO_3 neutralisiert. Von ihr läßt sich in der Hauptsache dasselbe sagen wie vom Asparagin, das als Halbamid der Amidobernsteinsäure ja schon bei Verseifung in Asparaginsäure übergeht. Asparaginsäure allein scheint wohl noch etwas günstiger zu wirken als Asparagin[3]). In dem Versuchskolben mit Asparaginsäure allein hatten sich nach 4 Tagen einige Schimmelpilze entwickelt; nach 8 Tagen war auch eine ziemlich starke Bakteriendecke auf der Flüssigkeit vorhanden. Bei Zusatz von weiteren Kohlenstoffquellen entwickelten sich jedoch die Mikroorganismen weit besser. Besonders verschiedene Schimmelpilze kamen zu üppigem Wachstum. Bei Zusatz von Rohrzucker, Glyzerin und Galaktose gediehen sie massenhaft; die Reaktion war am Ende wie zu Beginn des Versuches neutral oder sehr schwach alkalisch. Auch bei Anwendung von Calciummalat oder von Maltose entwickelten sich die Schimmelpilze sehr gut. Ein Zusatz von Kaliumoxalat, Natriumformiat und Calciumbutyrat zu Asparaginsäure schien nicht allein keine ernährende Wirkung auszuüben, sondern geradezu schädlich zu sein. Denn, während bei Anwendung der Asparaginsäure allein mit den nötigen Mineralien sich nach 4 Tagen, wie oben schon gesagt, deutlich sichtbar Schimmelpilze entwickelt hatten, waren die Nährlösungen mit den drei genannten organischen Salzen unter im übrigen gleichen Bedingungen klar geblieben.

Erst nach 9 Tagen hatten sich in dem Kolben mit Calciumbutyrat einige Schimmelpilze entwickelt, während die beiden anderen kaum getrübt erschienen. Zugabe von Rohrzucker + Glyzerin erzeugte in alkalischer Lösung eine sehr starke Bakteriendecke, in saurer eine mächtige Entwickelung von schneeweißen Schimmelpilzen. Wurde neben dem Oxalat noch Dextrin gereicht, so war die Bakterienentwickelung recht gut. Galaktose allein erwies sich entschieden günstiger als in Kombination mit Aethylalkohol.

Bei Verwendung von ameisensaurem Ammonium allein bekam ich auf der Flüssigkeit eine nur geringe Deckenbildung[4]). Aber auch in anderen Fällen, wo das Ammoniumformiat mit sonst gut ernährenden Kohlenstoffquellen in Anwendung kam, zeigte es sich wenig wirksam. Eine saure Reaktion infolge Freiwerdens der verhältnismäßig starken organischen Säure trat nirgends auf, jedenfalls nicht in flacher Schicht.

---

[1]) Vergl. Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 95.

[2]) Gottheil, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. p. 430, bezeichnet Asparagin + Dextrose als gute Nahrung für Bodenbakterien.

[3]) Auch Klebs, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXIII. 1899. p. 513, fand Asparagin nicht so gut wie die betreffende Aminosäure.

[4]) Nägeli, l. c. p. 313, konnte bei analogen Versuchen gar keine Entwickelung konstatieren.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In einem Versuche mit Traubenzucker als Kohlenstoffquelle, wo die Lösung mit KH_2PO_4 sauer gemacht war, entwickelten sich sowohl Bakterien als Schimmelpilze üppig; nach 10 Tagen war die Reaktion alkalisch geworden.

Die beste Entwickelung hatten die Versuchskolben mit Traubenzucker, Dextrin, Calciumlaktat, Milchzucker oder Rohrzucker + Glyzerin aufzuweisen. Nach 16 Tagen ergab aber das Nesslersche Reagens noch überall eine deutliche Reaktion. Weniger üppige Kulturen erzielte ich mit Maltose, Galaktose, Glyzerin und Rohrzucker. Kombination von Glyzerin und Rohrzucker war demnach, wie auch sonst bei den Ammoniumverbindungen der organischen Säuren, vorteilhaft. Galaktose wurde in ihrem Nähreffekt von Aethylalkohol nicht beeinflußt. Allein gab Aethylalkohol eine nur kümmerliche Entwickelung. Entschieden besser wirkte n-Butylalkohol.

Das essigsaure Ammonium zeigte einen entschieden besseren Nähreffekt als das ameisensaure Salz. Ammoniumacetat allein ließ nur eine sehr dürftige Vegetation entstehen.

In Verbindung mit vielen Kohlenstoffquellen stellte das essigsaure Ammonium eine sehr gute Nahrung dar. Bei Verwendung von Traubenzucker bildete sich eine sehr starke Decke. Die Reaktion war am Anfang schwach sauer; nach 10 Tagen, nachdem sich viele Schimmelpilze entwickelt hatten, war sie alkalisch. Zu dieser Zeit ergab die Prüfung mit Nesslers Reagens nur noch eine sehr schwache Reaktion. Dextrin, Galaktose und Rohrzucker + Glyzerin erwiesen sich ebenfalls als günstig. Bei Verwendung von Rohrzucker bildete sich eine starke Bakterienhaut, die von zahlreichen Schimmelpilzen besiedelt wurde. Die Reaktion, zu Beginn des Versuches schwach alkalisch, wurde dann schwach sauer, nach 4 Wochen wieder alkalisch. Auch Milchzucker bewährte sich sehr: Nesslers Reagens lieferte nach 16 Tagen sowohl hier wie auch bei Rohrzucker keine Reaktion mehr. Milchzucker wurde durch eine Zugabe von Calciumsuccinat in seiner Nährtüchtigkeit nicht beeinflußt, dagegen wurde Galaktose in ihrem Nähreffekt durch Aethylalkohol herabgesetzt. Weniger günstig als die genannten Kohlenstoffquellen erwiesen sich Glyzerin und Mannit.

Das buttersaure Ammonium zeigte sich bei den qualitativen Versuchen im allgemeinen günstiger und besser ernährend als das Ammoniumacetat. Das Ammoniumsalz dieser Fettsäure zeigte sich ganz deutlich imstande, allein als Kohlenstoff- und als Stickstoffquelle zu fungieren; es bildete sich eine ziemlich starke Decke von Schimmelpilzen. Eine ausgezeichnete Entwickelung bekam ich mit Traubenzucker: Hier war schon nach 10 Tagen jede Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens verschwunden und die Flüssigkeit mit einer dicken schneeweißen Schimmelpilzdecke überzogen. Die Reaktion war sowohl am Anfang als am Ende des Versuches schwach sauer. Eine gute Entwickelung hatten auch die Versuchskolben mit Milchzucker und Calciumlaktat aufzuweisen. Hier war die Ammoniakreaktion nach 16 Tagen verschwunden. Kaum weniger günstig zeigten sich Rohrzucker, Maltose, Dextrin und Rohrzucker + Glyzerin. Es kamen sowohl Bakterien als Schimmelpilze reichlich zur Entwickelung. Bei Verwendung von Milchzucker bildete sich bei schwach saurer Reaktion eine starke Bakteriendecke. Weniger kräftig schienen Glyzerin und Mannit zu wirken. Kaliumoxalat und Kaliumcitrat ergaben anfangs eine ziemlich kräftige Entwickelung, die dann aber alsbald durch die freiwerdende Base gehemmt wurde. Beide wurden auch in Verbindung mit Dextrin geprüft. Kaliumoxalat + Dextrin ergab eine bedeutend bessere Entwickelung als Kaliumcitrat + Dextrin. Höchstwahrscheinlich dürfte von dem Oxalat wohl nichts verbraucht sein, denn die Reaktion blieb, wie sie zu Beginn war, schwach alkalisch. Das Kaliumcitrat wurde aber von Dextrin nicht ganz vor Verbrauch geschützt, worauf die sehr stark alkalische Reaktion hindeutete, die auch eine weitere Entwickelung der Kultur gehemmt haben dürfte.

Ammoniumoxalat wurde in Form von Di-ammoniumoxalat geprüft.

Als gute Nahrung erwies sich das oxalsaure Ammonium in Verbindung mit Dextrin, Traubenzucker, Milchzucker und Calciumlaktat, wo sich überall bei schwach alkalischer Reaktion eine ziemlich starke Bakteriendecke herausgebildet hatte; nur bei Traubenzucker waren neben Bakterien auch viele Schimmelpilze wahrzunehmen. In den genannten Kulturflüssigkeiten war nach 16 Tagen keine oder nur eine ganz minimale Reaktion mit Nesslers Reagens zu verzeichnen. Glyzerin und Rohrzucker waren etwas weniger wirksam; als beide zusammen geboten wurden, trat eine üppigere Entwickelung auf als dann, wenn sie einzeln zur Verwendung kamen. Rohrzucker schien in seiner Nährkraft durch Aceton nicht beeinflußt zu werden. Natriumtartrat, neben dem gut ernährenden Dextrin angewandt, wurde teilweise mit assimiliert; die dadurch entstehende sehr starke Alkalität der Nährlösung verhinderte eine weitere kräftige Entwickelung.

Bernsteinsaures Ammonium, das als neutrales Salz gegeben wurde, stellt, allein angewendet, eine ziemlich gute Nahrung dar[1]). In Verbindung mit anderen Kohlenstoffquellen ernährt Ammoniumsuccinat zum Teil recht gut. Die üppigste Vegetation bekam ich dort, wo Rohrzucker + Glyzerin hinzugefügt worden war. Als gut waren auch die Nährlösungen mit Traubenzucker, Calciumlaktat und Fruchtzucker zu bezeichnen. Weniger gut bewährten sich Glyzerin, Rohrzucker und Milchzucker. Bei Verwendung von Stroh als Kohlenstoffquelle hatte sich auch schon nach 16 Tagen eine schwache Bakteriendecke herausgebildet, nur wenig schwächer als bei Glyzerin. Daß Kaliumcitrat neben Maltose auch assimiliert wurde, bewies die stark alkalische Reaktion, die nach Verlauf einiger Tage hervortrat.

Milchsaures Ammonium allein vermag sehr gut zu ernähren, und zwar nach meinen Beobachtungen besser als Ammoniumtartrat[2]). In Kombination mit anderen Kohlenstoffquellen wirkte das milchsaure Ammonium sehr gut. Besonders günstige Resultate wurden erzielt mit Glyzerin, Rohrzucker, Galaktose, Traubenzucker, Dextrin, Milchzucker und Calciumlaktat. Ueberall war nach 16 Tagen kein (oder höchstens nur eine Spur) Ammoniak mit Nesslers Reagens mehr nachzuweisen. In allen Fällen kamen sowohl Bakterien wie auch Schimmelpilze zur Entwickelung, die letzteren vorwiegend bei Rohrzucker in schwach saurer, bei Traubenzucker in alkalischer Lösung. Bei Rohrzucker + Glyzerin bildete sich eine stark schleimige Bakteriendecke. Galaktose wurde durch Aethylalkohol nicht beeinflußt. Aethylalkohol, allein dem Ammoniumsalz hinzugefügt, erwies sich als wenig brauchbar.

Aepfelsaures Ammonium, als neutrales Ammoniummalat angewendet, wurde mit mehreren Kohlenstoffquellen von den Mikro-

---

1) Vergl. Nägeli, l. c. p. 312, 287, 288.

2) Nägeli, l. c. p. 312 stellt beide Verbindungen in bezug auf Nährtüchtigkeit gleich.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

organismen sehr gut assimiliert. Von den untersuchten Kohlenstoffquellen wirkten besonders Rohrzucker + Glyzerin, Glyzerin, Rohrzucker und Dextrin sehr günstig. Nach 10 Tagen war in diesen Versuchskolben die Ammoniakreaktion verschwunden und eine ziemlich starke Bakteriendecke zu bemerken. Außer in der Dextrinlösung hatte sich auf der Bakteriendecke eine mehr oder weniger starke Schimmelpilzvegetation eingestellt. Nicht viel weniger gut als die genannten Kohlenstoffquellen wurden in der Ammoniummalatlösung die sonst in der Regel weniger gut wirkenden einwertigen Alkohole (Aethyl- und n-Butylalkohol) ausgenutzt. Nach 10 Tagen war nur noch eine Spur Ammoniak nachweisbar, und es hatte sich bei schwach alkalischer Reaktion eine ziemlich kräftige Bakteriendecke gebildet. Die sonst fast ausnahmslos besser ernährenden Kohlenstoffquellen, Traubenzucker und Calciumlaktat, wirkten hier gerade so; auch in diesen Fällen war nach 10 Tagen noch eine Spur Ammoniak vorhanden. Weniger wirksam erwiesen sich Milchzucker, Cellulose, Succinat und Tartrat. Die Wirkung des Dextrins wurde durch eine Zugabe von Tartrat herabgesetzt. Succinat + Milchzucker wirkten wie beide allein.

Weinsaures Ammonium, als neutrales Tartrat gegeben, ist allein, oder noch besser in Kombination mit mehreren Kohlenstoffquellen, eine ausgezeichnete Mikroorganismennahrung.

Neben Rohrzucker wirkten von den Kohlehydraten in meinen Versuchen auch Traubenzucker und Dextrin sehr gut. Hier war eine starke Bakteriendecke zu verzeichnen, bei Traubenzucker außerdem bei schwach alkalischer Reaktion noch eine kräftige Schimmelpilzentwickelung. Ebenfalls als gut, wenn auch etwas weniger günstig, erwiesen sich Stärke und Milchzucker.

Minder günstig war Calciumlaktat. Eine Zugabe von Fruchtzucker wirkte nicht fördernd; in beiden Fällen war nach 16 Tagen noch eine ziemlich starke Ammoniakreaktion vorhanden. Auch Mannit erwies sich als weniger geeignet. Die Wirkung des Dextrins wurde durch Hinzufügung von Tartrat (in Form seines neutralen Natriumsalzes) wohl infolge des Eintretens einer stark alkalischen Reaktion in seinem Nähreffekt herabgesetzt. Wie immer, ging die „Festlegung“ des Stickstoffes bei Verwendung von Stroh als alleiniger Kohlenstoffquelle nur langsam vor sich; immerhin war aber nach 16 Tagen eine Deckenbildung zu konstatieren, die bedeutend stärker war als bei ausschließlicher Verwendung des Ammoniumtartrates.

Zitronensaures Ammonium muß als eine sehr gute Stickstoffquelle gelten. Allein (als neutrales Ammoniumsalz verwendet) ernährt es bedeutend weniger gut als das weinsaure Ammonium. Eine sehr kräftige, hauptsächlich nur aus Bakterien bestehende Vegetation zeigte sich in den Versuchskolben mit Rohrzucker, Glyzerin, Rohrzucker + Glyzerin und mit Milchzucker. Nach 12 Tagen war hier überall die Ammoniakreaktion verschwunden. Als weniger gut, aber immerhin noch günstig, erwiesen sich Stärke und n-Butylalkohol. Nach 12 Tagen war noch eine geringe Ammoniakreaktion vorhanden. Der Nähreffekt von Milchzucker wurde durch Succinat verringert. Auch Mannit wirkte recht günstig, Aceton dagegen schlecht; dieser setzte auch die Wirkung des Mannits etwas, wenn auch nur wenig, herab.

B. Im Anschluß an die voraufgehende Besprechung der Wirkung der verschiedenen Stickstoffquellen mögen die Resultate meiner Versuche nunmehr auch noch im Hinblick auf den Einfluß, den die Kohlenstoffquellen dabei ausübten, kurz erörtert sein.

Zunächst habe ich hier einige wenige, bisher noch nicht angeführte Versuche zu erwähnen, die zeigen sollten, ob einige in dem Boden vorkommenden und sich dort entwickelnden Gase, wie Methan und Kohlenoxyd, als Kohlenstoffquelle auch in erheblichem Maße zu der Festlegung von Stickstoffverbindungen durch Mikroorganismentätigkeit beitragen können. Daß die genannten Gase von Mikroorganismen aufgenommen werden, also als Kohlenstoffquelle dienen können, ist schon öfters [1] [2] [3] festgestellt worden. Es handelte sich aber darum, zu ermitteln, ob sie für eine erhebliche Assimilation in Betracht kommen.

Das Kohlenoxyd wurde durch Behandlung von Oxalat mit konzentrierter Schwefelsäure entwickelt, wurde also im Gemisch mit Kohlensäure angewandt. Methan wurde aus Aluminiumkarbid und Wasser dargestellt. Als Stickstoffquellen dienten in einigen Parallelversuchen $NaNO_3$, $Ca(NO_3)_2$, $(NH_4)_2SO_4$ und $MgNH_4PO_4$.

Ueberall fand eine Assimilation des Ammon- und Nitratstickstoffes statt, die im übrigen beim Sumpfgas stärker war als bei Kohlenoxyd. Die Assimilation ging aber in dem Versuchskolben so langsam vor sich, daß beide Verbindungen für weitere Versuche nicht in Betracht gezogen wurden. Immerhin wird besonders das Methan, das bei der Methangärung der Cellulose und anderer Substanzen in größeren Mengen im Boden auftreten kann [4], seinen Einfluß für die „Stickstofffestlegung“ mitunter geltend machen können.

Von den einwertigen Alkoholen wurden der Aethyl- und der n-Butylalkohol untersucht. Soweit sich dies aus meinen Versuchen ergibt, bieten beide im allgemeinen keine sehr gute Stickstoffquelle dar, besonders nicht in Verbindung mit den Nitraten, den Ammoniumsalzen der Mineralsäuren (mit Ausnahme vielleicht von Ammoniumkarbonat), sowie mit den Säureamiden und Amidosäuren.

In meinen Versuchen erwies sich Ammoniumkarbonat mit Aethylalkohol als ziemlich günstig. Weit besser wirkten aber beide Alkohole in Verbindung mit einigen Ammonsalzen der organischen Säuren. Mit Ammoniumformiat war die Entwickelung bei Aethylalkohol als Kohlenstoffquelle noch ziemlich mäßig, weit besser, wenn n-Butylalhohol verwendet wurde. Dasselbe war bei Ammoniumlaktat der Fall: überhaupt wirkte der n-Butylalkohol in meinen Versuchen entschieden besser als der Aethylalkohol. Sehr günstig war die Wirkung von beiden beim apfelsauren Ammonium; sie waren hier mit Traubenzucker und Calciumlaktat auf eine Linie zu stellen. Auch mit Ammoniumcitrat wirkte n-Butylalkohol ziemlich gut.

---

1) Elfving, Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. Helsingfors. Zit. Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. I. p. 418.

2) Beijerinck und van Delden, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 33. Beijerinck gibt an, daß der von ihm entdeckte Bac. oligocarbophilus sich wahrscheinlich mit einer im Laboratorium, nicht in der Außenluft vorkommenden, flüchtigen organischen Verbindung ernährt. Höchstwahrscheinlich handelt es sich um CO, wie aus Versuchen von Kaserer (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 628, 769 f.) hervorgeht.

3) Söhngen, N. L. Het ontstaan en verdwijnen van waterstof en methaan onder den invloed van het organische leven. Diss. Delft 1906. Vergl. auch Kaserer, Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 575.

4) Vergl. die zusammenfassende Arbeit von Omelianski, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905/06. p. 673—687.

Aceton erwies sich in allen von mir untersuchten Fällen stets als eine sehr wenig zusagende Kohlenstoffquelle, oft ist es sogar imstande, die Wirkung von sonst gut ernährenden Kohlenstoffverbindungen deutlich herabzusetzen. Eine schädigende Wirkung konnte ich z. B. konstatieren, wenn daneben Mannit mit Ammoniumkarbonat, Hippursäure, Tyrosin oder mit Ammoniumcitrat verwendet wurde. Bei Harnsäure setzte Aceton die Nährtüchtigkeit des Rohrzuckers herab. Keinen schädigenden Einfluß übte das Aceton dagegen aus, wenn es neben Mannit in der Magnesiumammoniumphosphatlösung gegeben war. Das gleiche gilt für Ammoniumoxalat + Rohrzucker.

Von den mehrwertigen Alkoholen wurden Glyzerin und Mannit untersucht. Beide bieten zahlreichen Mikroorganismen in Kombination mit den verschiedensten Stickstoffquellen eine ausgezeichnete Nahrung dar. Sie sind mit den besten Kohlehydraten auf eine Linie zu stellen.

In weitaus den meisten Versuchen, die ich mit Glyzerin anstellte, waren die Ergebnisse günstig. So wirkte Glyzerin sehr gut in den Versuchen mit Natrium- und Calciumnitrat, mit Ammoniumsulfat, Ammoniumkarbonat, Salmiak, Asparagin, Asparaginsäure, Harnsäure, Leucin und Tyrosin. Etwas weniger günstig war das Resultat, wenn der Stickstoff in Form von Ammoniumnitrat, Magnesiumammoniumphosphat, Acetamid, Hippursäure und Guanidinkarbonat geliefert wurde.

In Verbindung mit den Ammonsalzen der organischen Säuren scheint Glyzerin weniger gut zu wirken; nur beim weinsauren und milchsauren Ammonium erhielt ich günstige Resultate, ziemlich gute auch bei Ammoniummalat, während in den anderen Fällen (mit ameisensaurem, essigsaurem, buttersaurem, oxalsaurem und bernsteinsaurem Ammonium) der Erfolg nur mäßig war.

Glyzerin gibt in der Regel zu einer starken Gärung keine Veranlassung; es wird deshalb in Nitratassimilationsversuchen mit Vorteil angewandt[1]).

Mannit zeigt im allgemeinen einen etwas geringeren Nähreffekt als Glyzerin: immerhin wirkte er aber doch noch recht gut, und hat deshalb oft bei Versuchen Anwendung gefunden.

Einen günstigen Nähreffekt des Mannits konnte ich speziell dann beobachten, wenn er in Kombination mit folgenden Stickstoffquellen gegeben wurde: Calciumnitrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumkarbonat, Magnesiumammoniumphosphat, Salmiak, Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure, Leucin, Tyrosin und Ammoniumcitrat. Weniger wirksam war er neben Ammoniumnitrat, Guanidinkarbonat, essigsaurem, buttersaurem und weinsaurem Ammonium. Bei Guanidinkarbonat wirkte ein Zusatz von Glyzerin zu Mannit nicht fördernd. Eine Zugabe von Aceton wirkte in den meisten Fällen schädlich.

Von den oft recht gut nährenden Kohlehydraten, die um dieser Eigenschaft willen schon häufig Anwendung gefunden haben, zog ich zu meinen Versuchen eine größere Zahl heran.

Die Stärke ist wegen ihrer Schwerlöslichkeit nicht imstande, als rasch wirkende Kohlenstoffnahrung zu dienen. Immerhin wirkte sie bei meinen Versuchen, in denen naturgemäß mit der Erde eine größere Zahl amylolytisch wirkender Mikroorganismen zugeführt wurde, in Verbindung mit einigen Stickstoffquellen, wie Leucin und Tyrosin ziemlich

---

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. p. 599.

gut, doch ist hierbei auch zu berücksichtigen, daß Leucin und Tyrosin selbst als gute Kohlenstoffquelle gelten müssen. Aber auch in Verbindung mit Natriumnitrat, Ammoniumkarbonat, Magnesiumammoniumphosphat, Asparaginsäure, weinsaurem und zitronensaurem Ammonium lieferte die Stärke ziemlich günstige Resultate. Wenn jedoch eine intensive Assimilation angestrebt wird, kann die Stärke als Kohlenstoffquelle nicht in Betracht kommen.

Was von der Stärke gesagt wurde, gilt in noch erhöhtem Maße für Cellulose, die, als chemisch reine Cellulose, von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen, gegeben wurde. Viele Bakterien und Schimmelpilze besitzen die Fähigkeit, Cellulose zu zersetzen und auf enzymatischem Wege in Lösung zu bringen [1]).

Diese Wirkung ging indessen in dem Versuchskolben nur sehr langsam vor sich, war aber (sowohl unter aëroben als unter anaëroben Bedingungen) durch das Auftreten tiefbrauner bis schwarzer Färbungen ständig zu konstatieren.

Bedeutend besser als die reine Cellulose wirkte das an Pentosanen [2]) reiche Stroh, das in sehr fein verteiltem Zustande verabreicht wurde. Kombiniert mit den verschiedenen Stickstoffquellen, sowohl mit Nitraten, mineralischen und organischen Ammonsalzen als mit Amiden, zeigte es manchmal einen ziemlich kräftigen Nähreffekt, so daß, obwohl langsam, eine Decke auf der Flüssigkeit zur Entstehung kam. Jedenfalls kann das im Boden stets vorhandene Stroh zu einer kräftigen Assimilation der löslichen Stickstoffverbindungen Veranlassung geben.

Dextrin ist eine in vielen Fällen sehr gut wirkende Kohlenstoffquelle. Sehr gute Resultate wurden dort erzielt, wo der Stickstoff in Form von Calciumnitrat, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumkarbonat, Magnesiumammoniumphosphat, Harnstoff, ameisensaurem, essigsaurem, buttersaurem, oxalsaurem, milchsaurem, apfelsaurem und weinsaurem Ammonium verabreicht wurde. Weniger günstig war die Wirkung neben Asparagin und Salmiak als Stickstoffquelle.

Rohrzucker ist wohl eine der zu Versuchszwecken am meisten angewandten Kohlenstoffquellen; er gibt denn auch in Kombination mit vielen Stickstoffquellen recht gute Resultate.

Manchmal wirkt er wohl etwas weniger intensiv, aber von einer ungenügenden Ernährung ist in meinen Versuchen mit Rohrzucker nie die Rede gewesen.

Eine sehr gute Entwickelung stellte sich in denjenigen Kolben ein, wo neben Rohrzucker Natriumnitrat, Ammoniumkarbonat, Magnesiumammoniumphosphat, Salmiak, Hippursäure, Harnsäure, Leucin, Asparagin und Asparaginsäure verabreicht worden waren. Mit Asparagin wirkt Rohrzucker ganz ausgezeichnet, und deshalb hat diese Kombination oft Anwendung gefunden [3]). Etwas weniger wirksam zeigte sich der Rohrzucker bei Form- und Acetamid. Desgleichen bei Harnstoff: es scheint also, daß diese einfachen Amide den Mikroorganismen Schwierigkeiten bieten, sie mit Rohrzucker zu Eiweißverbindungen aufzubauen. Bei

---

[1]) Van Iterson jr., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 689—697, spez. 696, 697.

[2]) Vergl. über den Pentosanengehalt verschiedener Stroharten: Düring, Journ. f. Landw. 1897. p. 78—111; Suringar und Tollens, Journ. f. Landw. 1896. p. 343; Tollens, Journ. f. Landw. Bd. LI. 1903. p. 355—364.

[3]) Nägeli, Untersuchungen über niedere Pilze. München und Leipzig 1882. p. 67, bezeichnet Rohrzucker, neben Ammoniumnitrat verabreicht, als die allerbeste Kohlenstoffquelle (für Schimmelpilze).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Harnsäure wirkte Rohrzucker dagegen wieder sehr gut. Von den Ammonsalzen der organischen Säuren wirkten neben Rohrzucker gut: buttersaures, milchsaures, apfelsaures, weinsaures und zitronensaures Ammonium, während sich ameisensaures, bernsteinsaures und oxalsaures Ammonium als weniger günstig erwiesen.

Obwohl Rohrzucker schon allein gewöhnlich sehr gut wirkt, wird sein Nähreffekt doch sehr oft durch einen Zusatz von Glyzerin gesteigert. Man darf wohl sagen, daß von allen untersuchten Kohlenstoffquellen in den meisten Fällen die besten Erfolge mit Rohrzucker + Glyzerin erzielt wurden, und besonders gilt dies dann, wenn als Stickstoffquelle Ammonsalze der organischen Säuren verabreicht werden. Nur in einigen wenigen Fällen war die Wirkung geringer als bei Verwendung von Glyzerin, besser aber wie mit Rohrzucker allein, und zwar bei Formamid, Acetamid und Harnstoff, worüber oben in bezug auf Rohrzucker schon einiges gesagt wurde. Sonst zeigten Glyzerin + Rohrzucker mit allen von mir überhaupt geprüften Stickstoffquellen eine gute Nährwirkung.

Maltose wirkt im allgemeinen günstig, wenn auch gewöhnlich nicht so günstig wie z. B. Glyzerin, Mannit oder Rohrzucker. Eine recht gute Entwickelung zeigte sich bei Verwendung von Maltose in Verbindung mit den verschiedenen Nitraten und mineralischen Ammoniumsalzen. Auch mit Harnstoff, Harnsäure, Asparagin, Asparaginsäure und Leucin war die Wirkung gut. Mit den Ammoniumsalzen der meisten organischen Säuren zeigte Maltose einen ziemlich hohen Nährwert, der nur bei Ammoniumformiat etwas niedriger war. In keiner einzigen Versuchsreihe erwies sich aber Maltose als die beste Kohlenstoffquelle.

Milchzucker äußert oft eine sehr gute Wirkung, so z. B. in den Versuchen mit Leucin und Tyrosin, wo er sich von den untersuchten Kohlenstoffquellen die beste zeigte. Neben den Nitraten war der Effekt weniger günstig, dagegen gut, wenn gleichzeitig mineralische Ammonsalze zugegen waren. Dergleichen war die Wirkung in Kombination mit Harnstoff, Harnsäure und Hippursäure sehr gut. Mit Asparagin als Stickstoffquelle erwies sich Milchzucker als weniger wirksam. Mit dem bernsteinsauren und apfelsauren Ammonium war die Wirkung des Milchzuckers auch etwas geringer, mit den Ammonsalzen der übrigen organischen Säuren, soweit untersucht, aber ziemlich gut.

Bei Ammoniumacetat war ein Zusatz von Calciumsuccinat zu Milchzucker ohne Einfluß, bei Ammoniumcitrat aber direkt schädlich für die Mikroorganismenentwickelung.

Der Traubenzucker wirkte in meinen Versuchen im allgemeinen recht gut, z. B. mit den Nitraten und mit den Ammoniumsalzen der mineralischen Säuren. Mit Harnstoff, Hippursäure und Asparagin war die Wirkung eine ganz ausgezeichnete. Auch mit Formamid und mit den Ammonsalzen der organischen Säuren war die Wirkung ganz gut zu nennen; nur mit Ammoniummalat war sie etwas weniger günstig. Mit Acetamid war die Nährtüchtigkeit des Traubenzuckers geringer als mit Formamid. Auch mit Guanidinkarbonat war eine etwas weniger üppige Vegetation zu verzeichnen.

Im allgemeinen darf man sagen, daß bei Verwendung von Traubenzucker als Kohlenstoffquelle hauptsächlich Schimmelpilze zur Entwickelung kommen. In erster Linie wird dies natürlich daher rühren, daß Traubenzucker leicht vergoren wird und zu einer Säuerung der Nährlösung Veranlassung gibt. Aber auch sonst kamen trotz deutlicher alkalischer Reaktion z. B. mit Natriumnitrat und Harnstoff beinahe nur Schimmelpilze zur Entwickelung.

Die Wirkung des Fruchtzuckers ist im großen und ganzen etwas weniger günstig als diejenige des isomeren Traubenzuckers, aber auch mit Fruchtzucker lassen sich ganz gute Resultate erzielen. Mit Harnstoff als Stickstoffquelle wirkte Fruchtzucker bedeutend schlechter als Traubenzucker, mit Hippursäure und Leucin war aber seine Wirkung sehr gut; so auch bei Nitrat. Der Zusatz von Calciumlaktat erhöhte manchmal die Wirkung des Fruchtzuckers, z. B. bei Calciumnitrat, Ammoniumsulfat, Harnstoff und anderen. Bei Hippursäure blieb dagegen eine Zugabe von Calciumlaktat ohne merkbaren Einfluß auf die Entwickelung.

Mit Galaktose sind zahlreiche Kleinlebewesen imstande, verschiedene Stickstoffverbindungen gut zu assimilieren. Das beste Resultat bekam ich in Verbindung mit Hippursäure. Aber auch mit Harnsäure und Asparaginsäure ließ die Galaktose eine starke Decke zur Entstehung kommen. Mit Harnstoff und Asparagin war die Entwickelung in den Versuchskolben etwas weniger üppig. Ein Zusatz von Kaliumcitrat und Aethylalkohol war eher schädlich als vorteilhaft zu nennen. Dagegen wirkte eine Zugabe von Aethylalkohol bei Ammoniumchlorid, das mit Galaktose allein ziemlich schlechte Resultate gab, entschieden vorteilhaft. Mit Ammoniumformiat als Stickstoffquelle wirkte die Galaktose wenig günstig: ein Zusatz von Aethylalkohol brachte keine Veränderung in den Kulturen. Mit essigsaurem, milchsaurem und bernsteinsaurem Ammonium war die Wirkung ziemlich gut zu nennen, stand hier aber doch einigen anderen Kohlehydraten gegenüber zurück.

Von den beiden geprüften Pentosen erwies sich die Xylose bedeutend nährtüchtiger als die stereoisomere Arabinose. Xylose ist mit den besten unter den Hexosen auf eine Linie zu stellen.

Die Essigsäure, die in Form des Calciumsalzes verabreicht wurde, wirkt entschieden besser als die Ameisensäure und Oxalsäure. In den Versuchskolben gab aber auch die Essigsäure gewöhnlich nur zu einer mäßigen Entwickelung Veranlassung, so z. B. mit Natriumnitrat als Stickstoffquelle[1]). Die Wirkung des Acetats war in meinen Versuchen mit Calciumnitrat und Ammoniumnitrat entschieden besser als mit dem Natronsalpeter, weniger gut dagegen mit Ammoniumsulfat. Wurde neben Acetat etwas Traubenzucker zugegeben, so war die Wirkung ganz gut. Blieb also das Acetat bei den meisten Kohlehydraten und anderen guten Kohlenstoffquellen weit zurück, so machte es doch eine Ausnahme von dieser Regel dort, wo Formamid als Stickstoffquelle gegeben worden war. Calciumacetat zeigte sich mit Formamid sehr wirksam, wie später auch die quantitativen Versuche dartun werden. Es war unter diesen Verhältnissen den besten Kohlenstoffquellen gleichwertig.

Die Buttersäure, als Calciumsalz den Versuchskolben zugesetzt, wurde nur mit wenigen Stickstoffquellen geprüft. Sie zeigte sich nicht sehr wirkungsvoll, am besten noch mit Asparagin; mit Asparaginsäure, die sonst gewöhnlich mindestens so leicht assimiliert wird als Asparagin, war das Resultat hier weniger günstig. Auch mit einigen anderen Stickstoffquellen wie Tyrosin zeigte die Buttersäure sich weniger wirksam. Soll diese organische Säure gut zur Geltung kommen können, so muß für eine alkalische Reaktion gesorgt werden, weil die Buttersäure in freiem Zustande schon in sehr geringen Konzentrationen schädlich auf die meisten Mikroorganismen einwirkt.

---

[1]) Nägeli, l. c. p. 307, erzielte mit diesen beiden Nährstoffen eine ziemlich kräftige Spaltpilzentwickelung.

Milchsäure (als α-Oxypropionsäure), ebenfalls in Form des Calciumsalzes geboten, zeigte in weitaus den meisten Fällen eine ausgezeichnete Wirkung und war manchmal den besten Kohlehydraten an die Seite zu stellen [1]). Die geringe Löslichkeit des Calciumlaktates ist also nicht nachteilig für eine gute Mikroorganismenentwickelung; vielleicht liegt in der gleichbleibenden Konzentration ein Vorteil, der das Calciumlaktat zu guter Wirkung kommen läßt. In Verbindung mit weitaus den meisten geprüften Stickstoffquellen äußerte das Calciumlaktat eine ganz vorzügliche Wirkung, so z. B. mit den Nitraten. Mit Natriumnitrat war schon nach 5 Tagen die Diphenylaminreaktion verschwunden, wie dies auch mit Rohrzucker der Fall war. Die Gärung, die in flacher Schicht übrigens nur minimal war, gestaltete sich bei Calciumlaktat keineswegs stärker als bei Rohzucker. Wie ich später bei der Besprechung der quantitativen Versuche mit Rohkulturen dartun werde, hatte auch beim Calciumlaktat durchaus nicht eine stärkere Denitrifikation stattgefunden als bei Rohrzucker, Traubenzucker und Fruchtzucker. Auch mit Calciumnitrat war die Wirkung des Calciumlaktats ausgezeichnet und mit derjenigen von Mannit, Traubenzucker und Glyzerin gleichzustellen: überall war schon nach 5 Tagen die Diphenylaminreaktion verschwunden.

In Verbindung mit den Ammonsalzen der mineralischen Säuren ernährte das milchsaure Calcium ebenfalls sehr gut, beim Ammoniumsulfat z. B. ebensogut wie Glyzerin, Milchzucker und Dextrin. Weiter wurden mit Calciumlaktat bei Magnesiumammoniumphosphat, Harnstoff und Guanidinkarbonat sehr gute Ergebnisse erzielt. Bei all diesen Stickstoffverbindungen gab die Kombination mit Calciumlaktat ebenso gute Resultate wie mit den besten Kohlehydraten. Auch bei den übrigen Amiden und Amidosäuren, wie Formamid, Harnsäure, Tyrosin, Asparagin und Asparaginsäure war die Wirkung des Calciumlaktats ziemlich gut; hier konnte es aber den besten Kohlehydraten nicht gleichkommen. Auf die Ammonsalze der organischen Säuren wirkt das milchsaure Calcium nicht ganz so günstig ein, vielmehr wurden hier die Kohlehydrate in der Regel von den Mikroben entschieden bevorzugt.

Bernsteinsäure, als neutrales Calciumsalz geboten, äußerte eine gute Wirkung, besser als Acetat und Butyrat, aber weniger gut als das Laktat. Besonders bei den Nitraten wurde mit bernsteinsaurem Ammonium eine gute Entwickelung erzielt. Von den mineralischen Ammoniumsalzen war das Salmiak für Calciumsuccinat günstiger als das Sulfat. Bei Calciumnitrat war der Zusatz von Milchzucker zum Succinat fördernd für die Vegetation. Mit den Ammonsalzen einiger organischen Säuren war die Wirkung des Succinats weniger befriedigend.

Aepfelsäure, als saures Calciumsalz angewendet, wurde, soweit sich aus meinen Versuchen ergibt, ziemlich gern von Mikroorganismen aufgenommen. Mit Leucin ließ sie eine kräftige Schimmelpilzvegetation zur Entwickelung kommen. Mit Asparagin und Asparaginsäure war die Wirkung ziemlich gut, wenn auch nicht derjenigen des Calciumlaktats gleichzustellen.

Die Weinsäure kam in meinen Versuchen nicht recht zur Geltung, weil sie in Form ihres Natriumsalzes angewendet wurde und nicht für

---

1) Vergl. Fränkel, A., Hygienische Rundschau. Bd. IV. 1899. p. 769.

eine ständige Neutralisation der freiwerdenden Base gesorgt worden war. So trat immer, sowohl in hoher als auch in flacher Schicht, sehr bald eine stark alkalische Reaktion auf, welche die weitere Entwickelung hemmte. Daß das Natriumtartrat den Nähreffekt anderer Kohlenstoffquellen manchmal verringerte, wird auf denselben Umstand zurückgeführt werden müssen.

Auch die Zitronensäure konnte als Kaliumcitrat ihre Nährkraft nicht voll entfalten infolge der alsbald auftretenden starken Alkalität der Nährflüssigkeit. In den meisten Versuchskolben gestaltete sich die Entwickelung wenig günstig. Bei einigen Versuchen, bei denen durch Zusatz von KH_2PO_4 für Neutralisation der freiwerdenden Base gesorgt worden war, war die Nährwirkung eine ganz gute und derjenigen der Bernsteinsäure mindestens gleichwertig.

Bis jetzt habe ich hauptsächlich nur von den in flacher Flüssigkeitsschicht durchgeführten Assimilationsversuchen gesprochen. Wie früher schon erwähnt wurde, war neben jedem Versuch in flacher Schicht ein Parallelversuch in hoher Schicht angestellt worden. In erster Linie kam es darauf an, zu ermitteln, welche Kohlenstoffquellen mit bestimmten Stickstoffquellen eine starke Gärung hervorrufen. Um nicht zu weitläufig zu werden, verzichte ich darauf, die erlangten Resultate einzeln anzuführen.

Jedenfalls ging aus den Versuchen in hoher Schicht, in denen die Assimilation bedeutend langsamer erfolgte, deutlich hervor, daß für diesen Prozeß hauptsächlich nur aërobe Formen in Betracht kommen.

Quantitative Versuche mit Rohkulturen.

Auf Grund der im vorhergehenden beschriebenen qualitativen Versuche wurden nun folgende Nährstoffkombinationen ausgewählt und zu quantitativen Versuchen verwendet:

Natriumnitrat	a) Rohrzucker b) Traubenzucker c) Fruchtzucker d) Calciumlaktat
Calciumnitrat	a) Mannit b) Traubenzucker c) Glyzerin d) Calciumlaktat
Ammoniumnitrat	a) Dextrin b) Traubenzucker
Ammoniumsulfat	a) Calciumlaktat b) Glyzerin c) Milchzucker d) Dextrin
Ammoniumkarbonat	a) Rohrzucker b) Dextrin c) Milchzucker
Magnesium-ammoniumphosphat	a) Rohrzucker b) Mannit c) Calciumlaktat
Ammoniumchlorid	Glyzerin
Formamid	a) Calciumacetat b) Traubenzucker
Acetamid	Glyzerin
Harnstoff	a) Dextrin b) Calciumlaktat
Guanidinkarbonat	Calciumlaktat
Harnsäure	a) Rohrz. + Glyzer. b) Mannit
Hippursäure	a) Rohrzucker b) Galaktose
Leucin	Milchzucker
Tyrosin	Milchzucker
Asparagin	a) Rohrz. + Glyzer a) Rohrzucker
Asparaginsäure	Rohrz. + Glyzerin
Ammoniumformiat	Traubenzucker
Ammoniumacetat	Rohrz. + Glyzerin
Ammoniumbutyrat	Traubenzucker
Ammoniumoxalat	Milchzucker
Ammoniumsuccinat	Rohrz. + Glyzerin
Ammoniumlaktat	Glyzerin
Ammoniummalat	Dextrin
Ammoniumtartrat	Glyzerin
Ammoniumzitrat	a) Rohrzucker b) Rohrz. + Glyzer.

Während für die qualitativen Versuche destilliertes Wasser zur Bereitung der Nährlösungen gebraucht worden war, wurde für die quantitativen Versuche Bodenextrakt benutzt, das auf die von Löhnis angegebene Weise hergestellt wurde. Hierzu wurden 0,5 Prom. K_2HPO_4 gegeben. Wie in den qualitativen Versuchen, so wurden auch hier die Kohlenstoffquellen in (in bezug auf den Kohlenstoff) äquivalenten Mengen zugesetzt, und zwar so, daß 0,6 Proz. Kohlenstoff verabreicht wurde. Von den gewöhnlichen Kohlehydraten mit 40 Proz. Kohlenstoff wurden also 1,5 Proz. zugesetzt, von den anderen Kohlenstoffverbindungen entsprechende Quantitäten.

Von den Stickstoffverbindungen wurden verschiedene Mengen zugesetzt, je nachdem sie in den qualitativen Versuchen assimiliert worden waren.

Die Versuche wurden in flacher, ca. 1 cm hoher Schicht (in 800 ccm Erlenmeyer-Kolben wurden je 50 ccm Nährflüssigkeit gegeben), bei Zimmertemperatur angestellt[1]). Als Impfmaterial wurden 10 Proz. Boden (dem Versuchsfelde Oberholz des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Leipzig in einer Tiefe von ca. 10 cm entnommen) zugesetzt, also auf jeden Kolben 5 g. Daneben wurden auch einige Kolben mit 5 Proz. Stallmist (2,5 g pro Kolben) als Impfmaterial beschickt. Die Versuche wurden stets in doppelter Zahl durchgeführt.

Die Stickstoffbestimmungen fanden in folgender Weise statt:

Der Gesamtstickstoff wurde, sofern kein Nitrat vorhanden war, nach Kjeldahl-Wilfarth bestimmt. War dagegen auch Nitratstickstoff in der Lösung, so versuchte ich anfänglich diesen durch einen Zusatz von Phenol zu Phosphorschwefelsäure mitzubestimmen. Weil diese Methode aber unbefriedigende Resultate lieferte, habe ich es weiterhin vorgezogen, zunächst das Nitrat in saurer Lösung nach Ulsch zu reduzieren und dann nach Kjeldahl zu verbrennen. Um den während des Aufbewahrens etwa hinzukommenden Stickstoff (als Nitrit aus der Laboratoriumsluft) mitberücksichtigen zu können, wurden stets zwei ungeimpfte sterile Gefäße während derselben Zeit aufbewahrt. Nach Ablauf des Versuches wurde der Gesamtstickstoff in den sterilen Kolben wie in den geimpften Gefäßen bestimmt[2]). Wegen der großen Schwierigkeit, die Bakterien- und Pilzmassen abzufiltrieren, wurden dieselben in den Versuchskolben selbst verbrannt. Nur in einigen wenigen Fällen, bei Entwickelung einer leicht abfiltrierbaren Schimmelpilzdecke, wurde diese, sowie die Nährflüssigkeit, getrennt analysiert. Die zugegebene Stickstoffverbindung wurde, sofern sie leicht löslich war, in wenig Wasser gelöst und in die Kolben pipettiert. Gleiche Mengen kamen sofort zur Analysierung. Der Nitratstickstoff wurde in alkalischer Lösung mittels Zink und Eisen reduziert und nach mehrstündigem Stehen in der gewöhnlichen Weise als Ammoniak destilliert. Die Amide und Amidosäuren wurden nach Kjeldahl verbrannt, während der Stickstoff der Ammoniumsalze durch Destillation mit Magnesia usta bestimmt wurde.

---

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 603 fand bei seinen Versuchen über Salpeterassimilation, daß eine höhere Temperatur (bis zu 30° C) zwar in gewissem, aber nicht erheblichem Maße fördernd wirkte.

2) Auf diese Weise wird also das eventuell absorbierte Nitrit als organisch gebunden angegeben. Indessen ist diese Menge so gering, daß sie, wenn man sie quantitativ bestimmen wollte, völlig innerhalb der Fehlergrenze liegen würde. Uebrigens kann dieser Fehler die Analyse nur zuungunsten der festgelegten Stickstoffquantität beeinflussen; d. h. also, die Assimilation wird allein etwas größer sein können, als die Analysen angeben.

Den sterilen Kolben wurde die Stickstoffquelle (sofern keine Verluste bei der Aufbewahrung zu befürchten waren), weil zwecklos und die spätere Analyse erschwerend, nicht zugesetzt[1]).

Im allgemeinen wurde so lange mit der Analyse gewartet, bis die zugesetzte Stickstoffquelle qualitativ nicht mehr nachzuweisen war[2]): die benutzten Reaktionen werden in jedem einzelnen Fall angegeben werden.

Die gebrauchte Erde (Wassergehalt 17 Proz.) enthielt in zwei verschiedenen Versuchsreihen 5,93 mg und 6,05 mg Stickstoff pro 10 g. Nitrat und Ammoniak waren nur in Spuren vorhanden. $2^1/_2$ g Stalldünger, wie er als Impfmaterial angewandt wurde, enthielten 13,08 mg Gesamtstickstoff, davon 1,96 mg als Ammoniak. Das benutzte Bodenextrakt gab mit Diphenylamin keine Bläuung; auch Ammoniak war nicht nachzuweisen.

In einigen vergleichenden Versuchen bekam ich folgende Ergebnisse[3]):

N als	C als	Impfmaterial	steril				geimpft			
			N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$NaNO_3$	Rohrzucker	Boden	13,04	—	7,61	20,65	—	—	22,80	22,80
		Stalldünger	13,04	1,96	12,77	27,77	—	—	27,90	27,90
$NaNO_3$	Fruchtzucker	Boden	13,04	—	7,64	20,67	—	—	22,79	22,79
		Stalldünger	14,89	1,96	12,49	29,34	—	—	30,43	30,43
$Ca(NO_3)_2$	Traubenzucker	Boden	10,59	—	8,21	18,80	—	—	20,09	20,09
		Stalldünger	10,59	1,96	13,40	25,95	—	—	26,32	26,32
$Ca(NO_3)_2$	Glyzerin	Boden	10,59	—	7,61	18,20	—	—	19,18	19,18
		Stalldünger	10,59	1,96	12,59	25,14	—	—	24,92	24,92
$(NH_4)_2SO_4$	Glyzerin	Boden	—	19,00	7,40	26,40	—	—	26,88	26,88
		Stalldünger	—	21,01	12,59	33,60	—	—	33,74	33,74
$(NH_4)_2SO_4$	Calciumlaktat	Boden	—	19,00	7,82	26,82	—	3,92	21,50	25,43
		Stalldünger	—	21,01	12,01	33,02	—	11,20	21,56	32,76

In den Versuchen mit Natrium- und Calciumnitrat war die Salpeterassimilation schon nach 5 Tagen beendet[4]), mit Ausnahme des Versuches mit Calciumnitrat + Glyzerin und Erde als Impfmaterial. Hier wurde erst nach 10 Tagen analysiert. Wo mit Stallmist geimpft wurde, war überall nach 5 Tagen die Assimilation beendet. Man ersieht deutlich aus diesen Zahlen, daß eine Denitrifikation, sowohl mit Dünger als auch mit Boden als Impfmaterial, nicht stattgefunden hat, obwohl öfters eine starke Gasentwickelung auftrat; der einmal beobachtete etwas größere Stickstoffverlust ist noch so gering (ca. 5,2 Proz. der für die sterilen Kolben berechneten Stickstoffmenge), daß er kaum außerhalb der Fehlergrenze liegt 1).

---

[1]) Ein Fehler kommt dadurch zustande, daß für die Kulturen der Gesamtstickstoff direkt bestimmt wird, für die sterilen Gefäße aber durch Addition des Stickstoffes der zugesetzten Stickstoffquelle und des im Vergleichskolben anwesenden Stickstoffes. Jedenfalls läßt sich beim Nitrat dieser Fehler nicht umgehen, weil das Nitrat auf keiner Weise absolut sicher zugleich mit dem organischen Stickstoff festgestellt werden kann. Der Gesamtstickstoffgehalt in den sterilen Gefäßen wird deshalb etwas zu hoch sein, weil bei der Destillation, wie Löhnis (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 601) angibt, ungefähr 0,42 mg Stickstoff zuviel gefunden wird. Andererseits dauert aber die Verbrennung der Kulturen gewöhnlich sehr lange, während welcher Zeit auch geringe Mengen Stickstoff absorbiert werden.

[2]) Bei den gewählten sehr geringen Konzentrationen und im Hinblick auf die (auch durch die Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen) komplizierten Verhältnisse war es manchmal nicht leicht, geeignete Reaktionen aufzufinden, besonders soweit organische Verbindungen in Betracht kamen, bei denen erfahrungsgemäß die Reaktionen ziemlich unsicher sind.

[3]) Parallelzahlen s. Tabellen am Schluß der Arbeit.

[4]) Gerlach und Vogel (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. p. 621, 622) führten Assimilationsversuche aus mit Ackererde „unter Bedingungen, unter welchen sich die Umsetzung der Nitrate im Boden vollzieht“, setzten aber nicht weniger als 50 Proz. Wasser zu. Daß unter derartigen fast anaëroben Verhältnissen, wo außerdem

In einigen Fällen ist eine ziemlich hohe Stickstoffzunahme zu verzeichnen: ob dies auf Stickstoffbindung zurückzuführen ist, soll dahingestellt bleiben. Weiter geht aus dem Versuch hervor, daß der Stalldünger mindestens (besonders dann, wenn man berücksichtigt, daß bloß halb so viel Impfmaterial genommen wurde als von der Erde) ebensoviel und gleich wirksame salpeterassimilierende Organismen enthält wie der Boden, überdies mußten hier auch noch die im Impfmaterial zugeführten 1,96 mg Ammoniakstickstoff innerhalb derselben Zeit assimiliert werden.

Bei Verabreichung von Glyzerin war in beiden Fällen die gegebene Menge Ammoniumsulfat innerhalb 10 Tagen assimiliert worden: mit Erde als Impfmaterial waren nicht weniger als 19 mg Stickstoff „festgelegt“ worden, im anderen Falle gar 21 mg. Wenn man dieses Resultat auf praktische Verhältnisse übertragen wollte, würde das heißen, daß innerhalb 10 Tagen 2 dz schwefelsaures Ammoniak pro Hektar restlos assimiliert worden wären.

Mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle war das Resultat weniger günstig.

In den weiter zu besprechenden quantitativen Assimilationsversuchen diente überall 10 Proz. Erde als Impfmaterial.

Bei Natriumnitrat zeigten Rohrzucker, Fruchtzucker und Calciumlaktat sich wirksamer als Traubenzucker: bei den ersten drei Kohlenstoffquellen war schon nach 5 Tagen das Nitrat völlig assimiliert worden, während bei Traubenzucker sich noch eine deutliche Diphenylaminreaktion zeigte; nach 10 Tagen hatte aber auch hier die Assimilation restlos stattgefunden.

Bei Calciumnitrat schien Mannit einen, wenn auch geringen, Stickstoffverlust verursacht zu haben. Nach 5 Tagen war die Diphenylaminreaktion verschwunden. Der ungeimpfte Kolben enthielt 18,62 mg Gesamtstickstoff, davon 10,59 mg als Nitrat. Am Ende des Versuches betrug die Gesamtstickstoffmenge der Kulturen nur 15,46 mg. Es hatte also ein Verlust von 3,16 mg, oder ungefähr ein Drittel des in Form von Nitrat gegebenen Stickstoffes stattgefunden. Mit Traubenzucker, Glyzerin und Calciumlaktat wurde das Nitrat restlos assimiliert, und zwar mit Glyzerin etwas langsamer als mit beiden anderen Kohlenstoffquellen.

Ammoniumnitrat wurde sowohl mit Dextrin als mit Traubenzucker ohne Verlust aufgenommen, mit dieser Substanz etwas langsamer als mit Dextrin: hier waren schon innerhalb 5 Tagen 15,18 mg Stick-

---

nur Stroh als Stickstoffquelle verabreicht wurde, innerhalb kurzer Zeit keine wesentliche Salpeterassimilation stattgefunden hat, ist begreiflich.

1) Wie sich aus den am Schluß der Arbeit beigefügten Tabellen ergibt, schwanken die analytischen Differenzen ungefähr von — 0,5 bis + 0,5 mg (bei hohen Stickstoffgaben). Im allgemeinen beträgt die Fehlergrenze ungefähr 5 Proz.

stoff in Form von Ammoniumnitrat in organische Bindung übergeführt worden.

Als Ammoniumsulfat, das bei den qualitativen Versuchen recht gut verwertet worden war, wurden nicht weniger als 19 mg Stickstoff zugesetzt. Das Resultat war folgendes:

C als	steril			geimpft		
	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Calciumlaktat	19,00	7,82	26,82	3,92	21,50	25,42
Glyzerin	19,00	7,40	26,40	—	26,88	26,88
Milchzucker	19,00	8,00	27,00	—	27,68	27,68
Dextrin	19,00	7,80	26,80	3,50	24,50	28,00

Bei Calciumlaktat scheint ein geringer Verlust an Stickstoff stattgefunden zu haben, doch fällt die Zahl, die kaum 5 Proz. des Gesamtstickstoffes beträgt, noch in die Fehlergrenze. Analysiert wurde nach 10 Tagen. Am besten haben also bei Ammoniumsulfat Glyzerin und Milchzucker gewirkt.

In dem Aussehen der Kulturen machten sich einige Unterschiede bemerkbar. Wie zu erwarten, entwickelten sich bei den Nitraten hauptsächlich nur Bakterien (bei Traubenzucker und Natriumnitrat traten jedoch in alkalischer Reaktion auch viele Schimmelpilze auf), während bei dem „physiologisch sauren" Ammoniumsulfat je nach der Reaktion Bakterien und Schimmelpilze nebeneinander erschienen.

In den Versuchen mit Ammoniumkarbonat ging in den sterilen Gefäßen durch Verdunstung viel verloren. In den Kolben mit Rohkulturen waren die Verluste dagegen sehr gering.

C als	Ursprünglich als $(NH_4)_2CO_3$ zugesetzt mg N	steril 1)			geimpft		
		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Rohrzucker	12,54	5,35	7,73	13,08	—	18,08	18,08
Dextrin	12,54	5,35	7,80	13,15	—	18,06	18,06
Milchzucker	12,54	5,35	8,12	13,47	—	17,04	17,04

In den sterilen Kolben hat also während des Versuches (Versuchsdauer überall 6 Tage) eine erhebliche Verflüchtigung des Ammoniumkarbonats stattgefunden; ungefähr 60 Proz. des verabreichten Stickstoffes

---

1) Bei der Sterilisation der Ammoniumkarbonatlösung finden nicht unerhebliche Stickstoffverluste statt, besonders wenn die dreimalige fraktionierte Sterilisation vorgenommen wird. Diese ist jedoch nicht nötig; die eigentliche Nährlösung ohne das Ammoniumkarbonat wurde von mir zweimal im strömenden Dampf erhitzt. Hierauf wurde schnell die in vorher sterilisiertem Wasser gelöste Ammoniumkarbonatmenge hineinpipettiert und noch einmal kurz sterilisiert. Die so erhaltenen Lösungen erwiesen sich stets als steril. Um den Verlust, der stattgefunden hatte, bestimmen zu können, wurden dann zwei Kolben (es wurden stets 4 Parallelkolben mit Ammoniumkarbonat beschickt) analysiert. Man wird nicht fehlgehen, wenn man für die beiden anderen genau so behandelten Gefäße dieselben Verluste ansetzt. Groß sind diese nicht. So wurden in einem Versuch zugesetzt:

a) 12,70 mg N; b) 12,64 mg N.

Nach der Sterilisation waren noch vorhanden:

a) 10,25 mg; b) 9,85 mg.

Der Verlust betrug also ungefähr 20 Proz.

sind auf diese Weise verloren gegangen. Die Kulturen haben aber weitaus den größten Teil assimilieren können; nach 6 Tagen ergab die Prüfung mit Nesslers Reagens ein negatives Resultat.

Bei Rohrzucker und Dextrin als Kohlenstoffquelle waren die Resultate völlig gleich. Bei Rohrzucker waren 2,19 mg, bei Dextrin 2,28 mg Stickstoff verloren gegangen, in beiden Fällen also 17—18 Proz. des ursprünglich zugesetzten Ammoniumkarbonats. Bei Milchzucker waren die Verluste etwas größer; sie betrugen hier fast 30 Proz.

Rohrzucker und Dextrin lieferten also, wenn Ammoniumkarbonat als Stickstoffquelle gegeben wurde, den assimilierenden Organismen eine geeignetere Kohlenstoffquelle als der Milchzucker.

Merkwürdig war, daß die anfänglich alkalische Reaktion am Ende des Versuches bei alleiniger Entwickelung von Bakterien überall ziemlich stark sauer geworden war.

Chlorammonium[1]) ernährt in Verbindung mit Rohrzucker + Glyzerin ausgezeichnet. Es trat eine kräftige Bakterien- und Schimmelpilzvegetation auf und schon nach 8 Tagen waren 16,12 mg Ammoniakstickstoff assimiliert worden.

Bei Formamid war es mir sehr interessant, die bei den qualitativen Versuchen gemachte Beobachtung bei der quantitativen Prüfung bestätigt zu finden, nämlich daß das sonst immer ziemlich schlecht ernährende Calciumacetat dann, wenn Formamid als Stickstoffquelle dient, mit den besten Kohlenstoffquellen zu konkurrieren vermag. Als Repräsentant einer im allgemeinen vorzüglichen Kohlenstoffquelle wurde Traubenzucker gewählt, der bei der qualitativen Prüfung in Verbindung mit Formamid auch eine sehr gute Wirkung gezeigt hatte.

Als Formamid wurden den Versuchskolben 19,39 mg Stickstoff zugesetzt. Nach 10 Tagen war das Amid nicht mehr qualitativ nachzuweisen.

Formamid gibt mit alkoholischer Silbernitratlösung einen orangeroten Niederschlag. Indessen habe ich es hier, wie bei vielen Säureamiden, vorgezogen, erst eventuell vorhandenes Ammoniak zu fällen, nach dessen Entfernung mit konzentrierter KOH zu erwärmen und das hierbei in Ammoniak zersetzte Amid auf die gewöhnliche Weise mit Nesslers Reagens nachzuweisen. Diese Methode ist empfindlich und gibt zuverlässige Resultate.

Bei Calciumacetat hatten sich nur Schimmelpilze, und zwar, soweit zu sehen, allein Mucor-Arten, bei Traubenzucker dagegen Bakterien und Schimmelpilze entwickelt. Die Schimmelpilze bei Calciumacetat wurden abfiltriert und getrennt analysiert. Sie enthielten 15,74 mg Stickstoff. An Ammoniakstickstoff waren 4,83 mg in der Lösung vorhanden. Weil beide Parallelkolben für die Ammoniakdestillation gebraucht wurden, konnte keine Gesamtstickstoffbestimmung gemacht werden. Es ist aber nicht anzunehmen, daß ein Stickstoffverlust stattgefunden hat, weil die Summe des in der Pilzsubstanz sowie des noch als Ammoniak vorhandenen Stickstoffes 20,57 mg beträgt, während 19,39 mg Stickstoff als Formamid zugesetzt wurden.

Bei Traubenzucker als Kohlenstoffquelle waren nach 10 Tagen 6,92 mg Stickstoff als Ammoniak nachzuweisen: die übrigen 12,47 mg waren von den Mikroorganismen assimiliert worden. Beim Calciumacetat sind also ungefähr 73 Proz., bei Traubenzucker als Kohlenstoffquelle

---

1) Wegen der Un- resp. geringen Löslichkeit des Magnesium-Ammoniumphosphates und der damit verknüpften Schwierigkeit zuverlässige Analysen zu bekommen, wurde davon abgesehen, mit dieser Substanz quantitative Versuche anzustellen.

ca. 65 Proz. des zugesetzten Formamides aufgenommen und verwertet worden.

Acetamid wurde in Verbindung mit Glyzerin sehr gut assimiliert. Zugesetzt wurden in dieser Form 13,78 mg Stickstoff. Nach 10 Tagen hatte sich eine schleimige Bakteriendecke mit einigen Schimmelpilzen in alkalischer Reaktion entwickelt.

Amid[1] und auch Ammoniak waren nicht mehr nachzuweisen. Das Acetamid war, wie die Analysen lehrten, restlos assimiliert worden. In Uebereinstimmung mit den bei den qualitativen Versuchen erhaltenen Resultaten lehrten auch die Ergebnisse der quantitativen Versuche, daß das Acetamid im allgemeinen eine bessere Stickstoffquelle darstellt als das Formamid.

Harnstoff wurde mit Dextrin und Calciumlaktat als Kohlenstoffquellen geprüft. Es war mir interessant zu erfahren, ob diese in der Landwirtschaft so wichtige Stickstoffverbindung in irgendwie erheblichem Maße von den Mikroorganismen assimiliert und so vor Verlusten geschützt werden konnte.

Folgende von mir erlangten Befunde bestätigten dies.

C als	steril				geimpft			
	Amid mg N	NH_3 mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg	Amid mg N	NH_3 mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg
Dextrin	15,89	—	7,79	23,69	—	6,32	17,96	24,28
Ca-Laktat	15,89	—	7,94	23,83	—	4,34	17,64	21,98

Nach 10 Tagen war in den Versuchskolben kein Harnstoff mehr nachzuweisen.

Die bekannte Liebigsche Harnstofftitration mit Mercurinitrat ist wegen zu geringer Empfindlichkeit nicht zu gebrauchen. Die Biuretreaktion versuchte ich zu benutzen, aber auch sie erwies sich als nicht hinreichend empfindlich. Sehr gut bewährte sich die bei Formamid angegebene Methode: Ueberführung des Harnstoffes mittels KOH in Ammoniak. Eine sehr hübsche und empfindliche Reaktion, die auch quantitativ zu gebrauchen ist, gibt Beijerinck an (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 39); hier wird der Harnstoff in Ammoniumkarbonat auf biologischem Wege mittels Ureumbakterien übergeführt.

In beiden Versuchsreihen hatte eine wesentliche Vermehrung des „Eiweißstickstoffes“[2] stattgefunden. Im ersten Fall betrug diese 10,17 mg, im zweiten 9,70 mg, also ungefähr zwei Drittel des zugesetzten Harnstoffstickstoffes. Ammoniakstickstoff war in beiden Nährlösungen vorhanden: bei Dextrin 6,32 mg. Verluste hatten hier nicht stattgefunden. Bei Zugabe von Calciumlaktat konnten 4,34 mg Ammoniakstickstoff nachgewiesen werden. Hier hat ein geringer Stickstoffverlust stattgefunden, der ungefähr 12 Proz. der verwendeten Harnstoffmenge entsprach. Daß in diesem Falle ein Stickstoffverlust zu beobachten war, wird wohl dadurch erklärt werden müssen, daß die freiwerdende Base des Calciumlaktates etwas Stickstoff aus dem aus Harnstoff entstandenen Ammoniumkarbonat getrieben hat.

---

[1] Zum Nachweis des Acetamidstickstoffes wurde die auch bei Formamid gebrauchte Methode benutzt.

[2] Hier wie auch in den am Schluß der Arbeit beigefügten Tabellen muß zwischen der zu prüfenden Stickstoffverbindung und dem von den Mikroorganismen assimilierten, ebenfalls in organischer Form vorhandenen Stickstoff (wozu auch die im Impfmaterial nachgewiesene Stickstoffmenge gerechnet wird) unterschieden werden. Um Verwechselungen zu vermeiden, mögen letztere Stickstoffverbindungen kurz als „Eiweiß“ bezeichnet werden, ohne daß natürlich hiermit bestimmt gesagt sein soll, daß es sich lediglich um echte Eiweißkörper gehandelt hat.

Das mit Harnstoff so nahe verwandte Guanidin (als Guanidinkarbonat angewandt) erwies sich, wenn Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle verwendet wurde, als sehr leicht assimilierbar. Die anfänglich alkalische Reaktion ließ nur Bakterien zur Entwickelung kommen. In Form von Guanidinkarbonat wurden den Versuchskolben 19,62 mg Stickstoff zugesetzt. In kurzer Zeit, schon nach 8 Tagen, war das Guanidin verschwunden und nur 0,49 mg Stickstoff in Form von Ammoniak vorhanden. Verluste waren nicht eingetreten; das Guanidin war also beinahe vollständig assimiliert worden.

Guanidinkarbonat färbt sich mit alkalischer Hypochloridlösung tiefgelb, dann orangerot. Sehr gut läßt sich, soweit keine anderen Amide zugegen sind, die Ueberführung in Ammoniak durch Erhitzen mit KOH anwenden.

Harnsäure und Hippursäure (mit Na_2CO_3 neutralisiert), die neben dem Harnstoff einen großen praktischen Wert für die Landwirtschaft haben, wurden, wie aus folgenden Versuchsergebnissen hervorgeht, kräftig assimiliert:

N als	C als	steril			geimpft			
		Amid mg N	„Eiweiß" mg N	Ges.-N mg	Amid mg N	NH_3 mg N	„Eiweiß" mg N	Ges.-N mg
Harnsäure	Rohrzucker + Glyzerin	18,41	7,57	25,98	—	—	27,25	27,25
	Mannit	18,41	8,09	26,50	—	—	25,53	25,53
Hippursäure	Rohrzucker	12,70	7,55	20,25	—	—	21,56	21,56
	Galaktose	12,70	7,38	20,08	—	—	20,81	20,81

Von der Harnsänre wurde eine etwas größere Stickstoffmenge (18,41 mg) zugesetzt als von der Hippursäure (12,70 mg), weil sie leichter assimiliert wird als diese. Hier erwies sich Mannit als Kohlenstoffquelle wirksamer als Rohrzucker + Glyzerin: bei Verwendung von Mannit gab schon nach 6 Tagen die Harnsäurereaktion ein negatives Resultat, bei Rohrzucker + Glyzerin erst nach 10 Tagen.

Zum Nachweis der Harnsäure können folgende Verfahren dienen:

Man übergießt Harnsäure mit etwas Salpetersäure und verdunstet im Wasserbad zur Trockne. Es hinterbleibt ein rötlicher Rückstand, der nach Zusatz von verdünntem Ammoniak (oder Ammoniumkarbonat) purpurrot wird. Ein weiterer Zusatz von KOH oder K_2CO_3 bewirkt eine violette Färbung (Murexidprobe).

Eine empfindliche und bequeme Reaktion, die deshalb von mir angewandt wurde, ist folgende: Harnsäure fällt in Gegenwart von Na_2CO_3 aus Silbernitrat metallisches Silber. Diese Reaktion läßt sich am besten folgendermaßen ausführen: man bringt einen Tropfen Silbernitratlösung auf Filtrierpapier. Hierauf setzt man etwas der zu prüfenden Flüssigkeit in Sodalösung hinzu. Bei Gegenwart von Harnsäure entsteht sofort ein dunkelbrauner (oder gelber) Fleck von metallischem Silber. Diese Reaktion ist sehr empfindlich: mit $^1/_{500}$ mg Harnsäure entsteht noch ein gelber Fleck.

In Verbindung mit Hippursäure erwiesen sich Rohrzucker und Galaktose als gleich wirksam: in beiden Fällen ließ sich nach 6 Tagen Hippursäure nicht mehr nachweisen.

Hippursaure Alkalien geben mit Eisenchlorid einen isabellfarbenen Niederschlag, unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in heißem Alkohol.

Zum Nachweis der Hippursäure läßt sich auch die Ueberführung in Ammoniak durch Kochen mit $KMnO_4$ und KOH benutzen.

Ueberall fand nur Bakterienentwickelung statt; die Flüssigkeiten waren mit einer starken Haut bedeckt. Bei den Versuchen mit Harnsäure wurde die Reaktion, die im Anfang neutral oder schwach sauer war, in beiden Versuchsreihen sehr stark sauer, bei Hippursäure mit Rohrzucker als Kohlenstoffquelle sehr stark alkalisch, in Verbindung mit Galaktose dagegen schwach sauer. Schaumbildung trat überall mehr oder weniger stark hervor. Wie die Gesamtstickstoffanalysen zeigen, ist nirgends ein Stickstoffverlust (jedenfalls nicht über die Fehlergrenze hinausgehend) aufgetreten.

Einen direkten Beweis dafür, daß nun tatsächlich Harnsäure und Hippursäure völlig assimiliert worden sind, kann ich nicht bringen. Es läßt sich natürlich sehr wohl denken, daß ein Teil bei dem Abbau in andere lösliche Verbindungen übergegangen (wie z. B. bei Hippursäure in Form von Glykokoll) und als solche in der Nährlösung vorhanden gewesen ist. Dagegen spricht aber folgendes: In den ersten Tagen trat eine starke Ammoniakentwickelung auf, die allmählich nachließ. Nach 6, resp. 10 Tagen, als die Reaktionen auf Harnsäure und Hippursäure ein negatives Resultat ergaben, war auch Ammoniak in der Lösung nicht mehr nachzuweisen. Wie schon gesagt, hatten die Kulturen sich ausgezeichnet entwickelt. Nach dem Verschwinden der Ammoniakreaktion verloren sie ihr frisches Aussehen, wie es immer der Fall ist, wenn die Flüssigkeit an ernährenden Bestandteilen erschöpft ist. Ich glaube deshalb annehmen zu dürfen, daß die zugesetzten Mengen Harnsäure und Hippursäure tatsächlich assimiliert worden waren. Jedenfalls waren Säureamide nicht vorhanden; Ammoniakentwickelung durch Behandlung mit Kaliumhydroxyd war nicht zu konstatieren; Amidosäuren (z. B. Glykokoll) lassen sich natürlich nach dieser Methode nicht nachweisen.

Leucin und Tyrosin wurden beide mit Milchzucker, mit dem sie in den qualitativen Versuchen eine gute Wirkung gezeigt hatten, auf ihre Assimilationsfähigkeit geprüft. Beide ließen eine kräftige Bakteriendecke zur Entwickelung kommen, die bei Leucin aber bedeutend stärker war als bei Tyrosin. Tyrosin war nach 8 Tagen nicht mehr in der Nährlösung nachzuweisen. 19,67 mg Stickstoff waren in dieser Verbindung zugesetzt worden. In Form von Ammoniak waren dann 0,84 mg Stickstoff vorhanden.

Leucin läßt sich erkennen an der Bildung von $Cu(C_6H_2NO_2)_2$: blaßblaue Kristallschüppchen aus mikroskopischen, rhombischen Tafeln bestehend, in Wasser sehr wenig löslich. (Beilstein, Org. Chemie. 3 Aufl. Bd. I. p. 1201/2.)

Um Tyrosin nachzuweisen, führte ich folgende beide Reaktionen nebeneinander aus: Tropft man 3—5 Tropfen einer Lösung von 5 ccm Acetaldehyd in 10 ccm Alkohol zu 2 ccm H_2SO_4 und gibt dazu einige Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, so entsteht eine Johannisbeerfärbung, die noch mit $^1/_{100}$ mg Tyrosin sichtbar wird.

Zu einer kleinen Menge der zu prüfenden Flüssigkeit setzt man einige Tropfen Millonsche Lösung und erwärmt gelinde bis zu beginnendem Sieden. Die Mischung färbt sich bei Gegenwart von Tyrosin zuerst rot, dann allmählich (häufig erst nach langem Stehen) tiefrot. Starkes Kochen muß vermieden werden, weil dann die Reaktion öfters unansehnlich wird.

Weitere Ammoniakentwickelung durch Kochen mit Kaliumhydroxyd fand nicht statt. Bei der Tyrosinassimilation schien ein Stickstoffverlust vorgekommen zu sein: in den sterilen Kolben betrug der Gesamtstickstoff am Ende des Versuches 27,77 mg, während die infizierten Gefäße 25,72 mg Stickstoff enthielten. Dieser Verlust beträgt aber nur ca. 8 Proz., fällt also kaum außerhalb der Fehlergrenze.

Die Versuchskolben mit Leucin als Stickstoffquelle gingen verloren; es konnten infolgedessen keine quantitativen Analysen gemacht werden.

Asparagin wurde, wie zu erwarten, sehr gut assimiliert. Sowohl mit Rohrzucker als auch mit Rohrzucker + Glyzerin trat eine starke Schaumbildung auf. Nur Bakterien kamen zur Entwickelung (bei einer sauren Endreaktion). Nach 6 Tagen waren Asparagin und Ammoniak, das überhaupt kaum wahrzunehmen war, nicht mehr nachzuweisen, obwohl nicht weniger als 18,76 mg Stickstoff in Form von Asparagin zugesetzt worden waren. Mit Kalilauge konnte kein Ammoniak entwickelt werden. Ersatz der Hälfte des Rohrzuckers durch eine entsprechende Menge Glyzerin blieb ohne positiven oder negativen Erfolg.

Asparagin gibt mit Kupferacetat einen blauen Niederschlag $Cu(C_4H_7N_2O_3)_2$, fast unlöslich in kaltem Wasser. Außerdem entweicht aus Asparagin als Halbamid der Amidobernsteinsäure durch Kochen mit Kalilauge die Hälfte des Stickstoffes als Ammoniak, das dann auf die gewöhnliche Weise mit Nesslers Reagens nachgewiesen werden kann.

Asparaginsäure, in Form des Natriumsalzes geboten, ließ anfänglich die Kulturen (mit Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle) sich sehr gut entwickeln, gerade so gut wie Asparagin, wie auch die qualitativen Versuche ergeben hatten. Durch die freiwerdende Base wurde aber die Nährflüssigkeit so stark alkalisch, daß sie die weitere Entwickelung hemmte. Quantitativ wurde nach 10 Tagen noch unzersetzte Asparaginsäure nicht bestimmt. Verluste im Gesamtstickstoff hatte hier, ebensowenig wie bei Asparagin, nicht stattgefunden.

Die Ammoniaksalze der organischen Säuren wurden mit den bei den qualitativen Prüfungen als geeignet gefundenen Kohlenstoffquellen im großen und ganzen gut von den Mikroorganismen assimiliert.

Folgende Versuche wurden durchgeführt:

N als	C als	steril			geimpft		
		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Ammonformiat	Traubenzucker	20,09	8,29	28,38	1,22	27,13	28,35
Ammonacetat	Rohrz. + Glyzerin	15,59	7,77	23,36	0,56	23,78	24,34
Ammonbutyrat	Traubenzucker	15,42	8,29	23,71	—	24,30	24,30
Ammonoxalat	Milchzucker	14,56	8,12	22,68	6,16	?	?
Ammonsuccinat	Rohrz. + Glyzerin	18,62	7,54	26,16	—	26,61	26,61
Ammonlaktat	Glyzerin	15,23	7,58	22,81	—	23,58	23,58
Ammonmalat	Dextrin	14,77	7,80	22,57	—	23,37	23,37
Ammoncitrat	Rohrzucker	12,80	7,57	20,37	—	21,51	21,51
Ammoncitrat	Rohrz. + Glyzerin	12,80	7,55	20,35	—	20,96	20,96

Wie man aus der Tabelle ersehen kann, sind nirgends Stickstoffverluste aufgetreten. Eine Verwandlung des Ammoniaks in Nitrit oder Nitrat war in keinem Kolben zu konstatieren. Die Ammoniakassimilation war gewöhnlich schon nach kurzer Zeit vollendet. Bei der Prüfung nach 6 Tagen war in den meisten Kolben Ammoniak nicht mehr nachzuweisen; die ziemlich erheblichen Ammoniakmengen (als bernsteinsaures Ammoniak z. B. 18,62 mg Stickstoff) waren assimiliert worden. Bei Verwendung von essigsaurem Ammoniak war von der verabreichten Stickstoffmenge nach 10 Tagen nur noch 0,56 mg als Ammoniak vorhanden.

Von 20,09 mg in Form von Ammoniumformiat zugesetztem Stickstoff wurden nach 10 Tagen nur noch 1,22 mg als Ammoniak nachgewiesen. In Anbetracht der gegebenen Menge verlief also auch hier die Assimilation noch recht intensiv. Ammoniumoxalat mit Milchzucker als Kohlenstoffquelle wurde weniger gut assimiliert. Von 14,56 mg Stickstoff, die in dieser Form zugesetzt wurden, waren nach 10 Tagen noch 6,16 mg als Ammoniak vorhanden. Also nur 64 Proz. des Ammoniaks waren hier assimiliert worden, was im Vergleich zu der Verwertung der anderen Ammoniumsalze niedrig zu nennen ist.

Ueberall, mit Ausnahme der Kolben mit Ammoniumbutyrat als Stickstoffquelle, kamen nur Bakterien zur Entwickelung; in den Gefäßen mit buttersaurem Ammoniak als Stickstoffquelle und Traubenzucker als Kohlenstoffquelle bildete sich bei stark alkalischer Endreaktion eine kräftige Schimmelpilzdecke. Diese Nährlösung ließ in meinen Versuchen nie Bakterien zur Entwickelung kommen.

Gegen Erwartung war die Endreaktion in den meisten Fällen alkalisch, gewöhnlich sogar sehr stark alkalisch, namentlich da, wo Glyzerin als Kohlenstoffquelle geboten worden war.

Bei Ammoniumcitrat veranlaßte Rohrzucker eine ziemlich stark saure Reaktion; wurde neben dem Rohrzucker noch Glyzerin verabreicht, so war die Flüssigkeit am Ende des Versuches sehr stark alkalisch.

Quantitative Versuche mit Reinkulturen.

Von den Versuchskölbchen, die für die qualitativen Assimilationsversuche Anwendung gefunden hatten, wurden zwecks Isolierung der für die Assimilation hauptsächlich in Betracht kommenden Mikroorganismen für jede einzelne Stickstoffquelle einige ausgesucht und hieraus in die betreffende Nährlösung übergeimpft. Von diesen Kulturen wurden dann die am besten entwickelten gewählt und zur weiteren Isolierung verwandt: es sind dies dieselben Nährlösungen, die auch für die quantitativen Versuche mit Rohkulturen gebraucht wurden, und die dort angegeben sind.

Zur Isolierung der durch diese Anhäufungsversuche in den Versuchskolben prädominierenden Arten wurde jedesmal ein aus der entsprechenden Nährlösung bereitetes Agar ($1\frac{1}{2}$ Proz.) verwendet. Auf diese Weise wurden 150 Stämme von Bakterien und Pilzen isoliert und geprüft.

Alle Kulturen wurden, nachdem sie durch mehrmaliges Anlegen von Gußkulturen sowie mikroskopisch rein befunden wurden, zunächst in kleine Erlenmeyer-Kolben, welche dieselbe Nährlösung enthielten, aus der die Kulturen ursprünglich isoliert worden waren, übergeimpft und qualitativ geprüft. Mit den am kräftigsten assimilierenden Stämmen und mit denjenigen, die interessante Beobachtungen versprachen, wurden dann auch quantitative Versuche ausgeführt, wobei die Nährlösungen genau so zusammengesetzt waren, wie bei den entsprechenden mit Rohkulturen durchgeführten quantitativen Versuchen. Man hat dabei, wenn man aus einer Lösung überimpft, den Vorteil, daß die übergeimpften Mikroorganismen unter möglichst gleichen Bedingungen gewachsen, ihre Wirkungen also besser vergleichbar sind, während Abimpfungen von Agarplatten, die je nach ihrer Zusammensetzung eine sehr voneinander abweichende Konsistenz und ein sehr verschiedenes Verhalten gegen Eintrocknen zeigen können, oft wenig zuverlässige Resultate geben, wie ich öfters beobachten konnte.

Was zunächst die Salpeterassimilation angelangt, so wurde ich enttäuscht in der Hoffnung, daß es gelingen würde, eine Kohlenstoff-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

quelle zu finden, bei deren Anwendung nur Salpeterassimilation vorkommen könnte, und jede Denitrifikation ausgeschlossen sein würde. Die Ergebnisse mit den quantitativen Rohkulturversuchen, wo nur ausnahmsweise ein Stickstoffverlust zu konstatieren war, ließen erwarten, daß es leicht sein müßte, die Denitrifikation auszuschließen. Es kamen jedoch unter den isolierten Stämmen recht viele Denitrifikanten vor, die also auch in den Rohkulturen vorhanden, aber nicht wirksam gewesen sein müssen.

Aus den Natriumnitratlösungen (mit Rohrzucker, Traubenzucker, Fruchtzucker und Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle) isolierte ich 12 Bakterienstämme und 2 Schimmelpilze.

Von der Nitrat-Rohrzuckerplatte wurden 6 Stämme isoliert, von denen sich bei der Prüfung 3 als Radiobacter-Varietäten erwiesen. Das vielfältige Vorkommen des Bac. radiobacter in der Nitrat-Rohrzuckerkultur läßt sich wohl erklären aus seiner Verwandtschaft mit Bact. radicicola, das Beijerinck[1]) als einen ausgesprochenen Nitrat-Rohrzuckerorganismus bezeichnet.

Bei der qualitativen Prüfung zeigten alle drei Stämme eine nur wenig ausgesprochene Salpeterassimilation; nach 3 Wochen trat mit Diphenylamin noch eine, wenn auch geringe, Blaufärbung auf.

Weitere zwei Stämme erwiesen sich mit dem von Löhnis entdeckten Bact. agreste[2]) identisch. Bact. agreste assimiliert den Salpeterstickstoff sehr energisch. Wie in Löhnis'[3]) Versuchen mit Glyzerin als Kohlenstoffquelle, so wurde auch in meinen Versuchen mit Rohrzucker der Nitratstickstoff restlos assimiliert. Nicht weniger als 18,48 mg Nitratstickstoff wurden innerhalb 14 Tagen restlos aufgenommen. In dem Bact. agreste hat man also einen Salpeterassimilanten par excellence vor sich.

Als sechster Stamm wurde eine Form isoliert, die ich dem Bact. chrysogloea Zopf (Lehmann und Neumann 359) zurechne. Sie verflüssigte Gelatine schwach und zeigte im übrigen die typischen Eigenschaften. Migula (System der Bakterien) führt dieselbe Art als unbeweglich an: meine Form zeigte lebhafte Beweglichkeit. Löhnis[4]) hatte schon Bact. fulvum bei seinen Versuchen über Salpeterassimilation gefunden. Meine Form scheint dem Bact. herbicola aureum (Burri und Düggeli)[5]) sehr nahe zu stehen: auch dieses assimiliert Salpeter. Der besprochene Chrysogloea-Stamm assimilierte das Nitrat bei weitem nicht so intensiv wie Bact. agreste.

Mit Traubenzucker als Kohlenstoffquelle wurde ein typisches Bact. herbicola aureum (nur schlechtes Wachstum auf Gelatine) isoliert. Auf der Nitrat-Traubenzucker-Agarplatte bildete es eigentümliche Kolonieen mit eisblumenähnlichen Figuren. Auch ein Bact. radiobacter kam zur Entwickelung (dieser Stamm peptonisierte die Milch in kurzer Zeit vollständig). Es wirkte sehr kräftig salpeterassimilierend, besser als Bact. herbicola aureum. Wegen Infizierung mit Schimmelpilzen mußte die quantitative Analyse unterbleiben.

Mit Fruchtzucker als Kohlenstoffquelle wurde zuerst ein ziemlich großes Stäbchen (ungefähr 1 μ breit, 2—4 μ lang) isoliert. Auf der

---

1) Beijerinck, Bot. Zeitung. Bd. XLVI. 1888. p. 725; 1890. p. 841, 842.
2) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Origin. Bd. XL. 1905. p. 177.
3) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 604.
4) Löhnis, l. c. p. 601.
5) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik. 4. Aufl. 1907. p. 356.

Nitrat-Fruchtzucker-Agarplatte schien es das Agar schwach zu verflüssigen, was man bis jetzt nur bei Meeresbakterien konstatiert hat. Weil es aber, trotz wiederholter Abimpfung, auf den gewöhnlichen Nährböden absolut nicht wachsen wollte, mußte eine genauere Bestimmung unterbleiben. Das Nitratassimilationsvermögen dieser Form war gering.

Weiter wurden von demselben Nährmedium Bact. fluorescens liquefaciens und Penicillium glaucum isoliert.

Bei meinen Versuchen gestaltete sich die Assimilation folgendermaßen:

Species	steril				geimpft			
	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Bact. fluorescens liquefaciens	18,48	—	1,42	19,90	0,68	1,98	12,30	14,96
Penicillium glaucum	13,04	—	1,42	14,47	3,46	2,34	9,11	14.91

Wo, wie in diesen Versuchen, neben dem Ammoniak noch Nitrat vorhanden war, wurde, um beide nebeneinander bestimmen zu können, zur Ammoniakdestillation Natronlauge verwendet und hierauf in der gewöhnlichen Weise der Nitratstickstoff mit Zink und Eisen zu Ammoniak reduziert und als solches überdestilliert.

Wie aus vorstehender Tabelle hervorgeht, wurde in keinem Falle das Nitrat vollständig assimiliert. Bei Penicillium glaucum trat kein Stickstoffverlust auf, bei Bact. fluorescens dagegen ging etwas Stickstoff (nicht ganz 20 Proz.) verloren. Im Vergleich zu später zu besprechenden Versuchen hat Bact. fluorescens hier nur eine geringe Denitrifikation verursacht. Löhnis[1]) bekam mit Bact. fluorescens einen Stickstoffverlust, der reichlich die Hälfte des zugesetzten Nitratstickstoffes betrug. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, hat in beiden Versuchsreihen eine Nitratreduktion stattgefunden.

Mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle wurden neben einem kräftigen salpeterassimilierenden Penicillium glaucum zwei Stämme isoliert, die als eine Uebergangsform von Bact. pneumoniae zu Bact. radiobacter angesehen werden konnten.

Daß die Kalksalze[2]) der organischen Säuren für die Denitrifikanten eine ausgezeichnete Nahrung darbieten, ging aus den quantitativen Versuchen hervor. Der Pneumoniae-Radiobacter-Stamm denitrifizierte äußerst stark: von 18,48 mg Nitratstickstoff wurden nur 0,88 mg in organischen Stickstoff übergeführt. Das Uebrige, also fast 95 Proz. des zugesesetzten Nitratstickstoffes, wurde denitrifiziert.

Auch mit Calciumnitrat als Stickstoffquelle waren die Denitrifikanten reichlich vertreten. Sehr häufig war hier das Bact. radiobacter zu finden. Von den 11 auf den verschiedenen Nährböden (Calciumnitrat in Verbindung mit Mannit, Traubenzucker, Glyzerin und Calciumlaktat) isolierten Bakterienstämmen gehörten 4 zur Radiobacter-Gruppe. Mit Mannit als Kohlenstoffquelle traten nur Radiobacter-Formen auf: schon bei der ersten Abimpfung erhielt ich eine Reinkultur von Bact. radiobacter. Man könnte demnach hier von einem „vollkommenen“ Anhäufungsversuch im Sinne Beijerincks[1]) sprechen.

---

[1]) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. p. 602, 603.

[2]) Van Iterson jr. machte in seinen „Anhäufungsversuchen mit denitrifizierenden Bakterien" von Kalksalzen organischer Säuren Gebrauch. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt II. Bd. XII. 1904. p. 108.

Diese Stämme zeigten ein ziemlich geringes Denitrifikationsvermögen. Von den zugesetzten 17,51 mg Stickstoff wurden in 18 Tagen 13,13 mg assimiliert; 4,38 mg, oder ungefähr 25 Proz. des zugesetzten Nitratstickstoffes wurden denitrifiziert.

Von der Calciumnitrat-Traubenzuckerplatte wurde ein Pilz isoliert, der dem Hermodendron cladosporioides Fres. sehr nahe stand. Auf der Gelatineplatte wurden die Kolonieen graugrün, während sie auf der Nitrat-Traubenzuckerplatte schneeweiß blieben. Dieser Pilz entwickelte sich in der Nitrat-Traubenzuckerlösung ganz ausgezeichnet; nach 20 Tagen war die Diphenylaminreaktion verschwunden, und es hatte sich (bei deutlich alkalischer Endreaktion) eine reichliche, schleimige Pilzmasse entwickelt, die beinahe die ganze Nährflüssigkeit aufgesaugt hatte. 17,79 mg Nitratstickstoff waren verabreicht worden. In den sterilen Parallelkolben waren am Ende des Versuches 19,79 mg Stickstoff vorhanden, während die mit Hermodendron geimpften Gefäße 17,48 mg Stickstoff enthielten. Es war also ein geringer Stickstoffverlust zu verzeichnen.

Von derselben Platte wurde ein ziemlich großes, sporenfreies Stäbchen (1 μ breit, 2—3 μ lang) gewonnen, daß auf den gewöhnlichen Nährböden nicht gedieh. Da infolge der Unmöglichkeit einer leidlich vollständigen Charakterisierung eine besondere Namensgebung nicht zweckmäßig erscheint, habe ich diese Form in den Tabellen nur mit ihrer Journalbezeichnung (Stamm 2) aufgeführt. Sie setzte den Nitratstickstoff beinahe vollständig in elementarer Form in Freiheit.

Weiter wurde von demselben Nährmedium ein Bact. herbicola aureum isoliert, das sich durchaus typisch verhielt: nur war die Entwickelung auf Agar und Gelatine gering.

In der Nitrat-Traubenzuckerkultur entstanden ganz kurze Stäbchen, die fast den Eindruck von Kokken machten. Es assimilierte den Nitratstickstoff ziemlich kräftig; nach 3 Wochen war die Diphenylaminreaktion verschwunden, was aber teilweise vielleicht auf eine Denitrifikation zurückgeführt werden kann.

Bei Calciumnitrat wurde weiter noch eine Reihe von sehr stark denitrifizierenden Bakterien gewonnen, von denen ich folgende vier erwähnen will (Bact. fulvum und punctatum mit Glyzerin, Bact. fluorescens und radiobacter mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle):

Species	steril			geimpft		
	N_2O_5 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Bact. fulvum	17,51	1,48	18,99	—	2,85	2,85
Bact. punctatum	17,51	1,48	18,99	—	3,32	3,32
Bact. fluorescens	17,51	1,90	19,41	—	2,98	2,98
Bact. radiobacter	17,51	1,90	19,41	0,98	2,83	3,81

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, haben alle Formen außerordentlich stark denitrifiziert; am wenigsten vollständig Bact. radiobacter, bei dem auch nach 20 Tagen noch ein, wenn auch geringer, Teil in Form von Nitrat vorhanden war. Daß Radiobacter in denitrifizierenden Varietäten auftreten kann, hat schon Beijerinck[1]) beobachtet.

---

[1] Beijerinck, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. p. 34.

Von der Calciumnitrat-Calciumlaktatplatte wurden 4 Stämme isoliert; zwei erwiesen sich als Bact. fluorescens liquefaciens, ein anderer war eine nicht fluoreszierende Putidum-Varietät. Alle drei Formen denitrifizierten; bei der qualitativen Prüfung war nach 11 Tagen die Diphenylaminreaktion verschwunden. Als vierter Organismus wurde der schon oben erwähnte Radiobacter-Stamm isoliert.

Als Repräsentant einer vollständigen Salpeterassimilation kann nach meinen Versuchen Bact. agreste gelten, als sehr energischer Denitrifikant dagegen Bact. fluorescens (Nitrat-Calciumlaktatstamm). Zwischen beiden liegen dann alle möglichen Uebergangsstufen. Bact. radiobacter (Nitrat-Mannitstamm) hat 75 Proz. des Nitrates assimiliert, 25 Proz. denitrifiziert; Penicillium glaucum (gezüchtet in der Natriumnitrat-Fruchtzuckerlösung) hat ungefähr 59 Proz. assimiliert, 17 Proz. zu Ammoniak reduziert, das übrige war noch als Nitrat vorhanden. Bact. fluorescens liquefaciens (Nitrat-Fruchtzuckerstamm) endlich hat kräftig assimiliert (ungefähr 60 Proz. des zugesetzten Stickstoffes), daneben aber auch zu Ammoniak reduziert und denitrifiziert.

Im Gegensatz zu den Rohkulturen, wo mit Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle recht gute Resultate erzielt wurden, war die Assimilation dieser Stickstoffverbindung mit Reinkulturen wenig intensiv. Dies ist vielleicht so zu erklären, daß in Rohkultur die Ammoniak- und Nitrat-bevorzugenden Mikroorganismen nebeneinander auftreten, während in Reinkultur bei einseitiger Bevorzugung des Ammoniaks und des Nitrates sehr bald eine schädigende saure oder basische Reaktion auftreten wird. Auch Gerlach und Vogel[2]) geben an, daß (in Reinkultur) die „Eiweißbildung“ aus Ammoniumnitrat sehr langsam von statten geht.

In meinen Versuchen zeigte sich überall nur eine geringe Assimilation des Ammoniumnitrates. Stickstoffverluste dagegen traten hier nirgends auf (Versuchsdauer 25 Tage).

Species	steril				geimpft			
	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Mucor racemosus	10,16	10,16	2,28	22,60	6,75	6,80	10,70	24,25
Bact. chrysogloea	10,16	10,16	1,75	22,07	9,80	10,23	2,59	22,62
Bac. Freudenreichii	10,16	10,16	2,28	22,60	11,04	10,44	3,04	24,52
(Stamm 3)	10,16	10,16	2,28	22,60	11,14	10,37	2,84	24,35

Am stärksten hat Mucor racemosus assimiliert, und zwar hat er ungefähr die gleichen Mengen Stickstoff in Form von Ammoniak und als Nitrat aufgenommen, also keine der beiden Stickstoffformen bevorzugt[3]). Die Reaktion war am Ende des Versuches schwach alkalisch.

---

[1]) Beijerinck, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 43.

[2]) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. p. 609—623.

[3]) Man hat oft beobachten können, daß bei gleichzeitiger Darbietung von Nitrat und Ammon Schimmelpilze beide gleich stark verarbeiten (Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. I. p. 361). Auch Wehmer (Botan. Zeitung. Bd. XI. 1891. p. 339) macht Angaben, die nicht für eine Bevorzugung des Ammons sprechen. Entgegengesetzte Mitteilungen macht Tanret (Compt. rend. de l'ac. d. sc. T. CXXIII. 1896. p. 948).

Aus der Ammoniumnitrat-Traubenzuckerkultur wurden 3 Schimmelpilzstämme gewonnen: der erste, Mucor racemosus, wurde schon besprochen. Die beiden anderen erwiesen sich als Penicillium glaucum. Beide Stämme assimilierten das Ammoniumnitrat gut; nach 3 Wochen war die Blaufärbung mit Diphenylamin verschwunden; die Prüfung mit Nesslers Reagens ergab dann noch ein (wenn auch nur in geringem Grade) positives Resultat. Penicillium glaucum scheint also, wenn Traubenzucker als Kohlenstoffquelle gegeben wird, das Ammoniak nicht zu bevorzugen.

Außerdem wurde auf demselben Nährmedium noch ein Bacillus isoliert, den ich als Bac. Freudenreichii Mig. bestimmte.

Das Ammoniumsulfat wurde in Rein- wie in Rohkultur ausgezeichnet und gewöhnlich in kurzer Zeit assimiliert. Innerhalb 20 Tagen hatte Bact. radiobacter mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle nicht weniger als 21,40 mg Stickstoff in Form von Ammoniumsulfat restlos aufgenommen. Bac. Freudenreichii leistete ähnliches in 25 Tagen mit Dextrin als Kohlenstoffquelle. Penicillium luteum legte bei Zusatz von Calciumlaktat in 20 Tagen 21,40 mg Ammonstickstoff fest. Penicillium glaucum assimilierte sowohl mit Glyzerin als mit Milchzucker als Kohlenstoffquelle in 20 Tagen 22,81 mg Ammonstickstoff. In den Gefäßen, welche mit Glyzerin beschickt wurden, war sogar ein etwas über die Fehlergrenze hinausgehender Stickstoffgewinn zu verzeichnen: während die sterilen Kolben am Ende des Versuches 24,29 mg Stickstoff enthielten, betrug der Gesamtstickstoff in den geimpften Lösungen 26,51 mg. Ob hier tatsächlich von einer Stickstofffixierung, welche Fähigkeit Schimmelpilzen schon öfters zugesprochen wurde, die Rede sein darf, mag dahingestellt bleiben.

Die an das Laktat gebundene Base erhöhte naturgemäß die alkalische Reaktion; gleichwohl entwickelte sich Penicillium luteum auch darin sehr gut.

Mit Dextrin als Kohlenstoffquelle wurden von der ersten Gußkultur zwei Pilzkolonieen abgeimpft, die beide dem Cladosporium herbarum Link sehr ähnlich waren. Beide assimilierten das Ammoniak lebhaft, aber doch nicht so stark wie z. B. Penicillium.

Als sehr kräftig assimilierend erwies sich auch der oben erwähnte Bac. Freudenreichii, oder jedenfalls ein der genannten Art sehr nahestehender Bacillus.

Bei den Versuchen mit Ammoniumkarbonat ging auch, wie schon bei Besprechung der Rohkulturen erwähnt wurde, in den sterilen Kolben der größte Teil des Stickstoffes verloren. Zugesetzt wurden 12,68 mg Stickstoff; nach der Sterilisation waren noch 10,04 mg vorhanden. Nach einer Versuchsdauer von 18 Tagen wurden aber nur noch 2,56 mg nachgewiesen, also reichlich 75 Proz. waren während der Aufbewahrung verdunstet. Trotzdem kann mit kräftig assimilierenden Arten der größte Teil des Ammoniumkarbonates zurückgehalten werden (natürlich dürfen dann die Konzentrationen nicht zu hoch bemessen sein). Folgende Mengen wurden von einigen Arten festgelegt:

(Siehe Tabelle p. 706.)

Die von der Ammoniumkarbonat-Rohrzuckerplatte isolierte Rosahefe wächst ganz ausgezeichnet auf diesem Nährboden. Sie ist aber auch imstande, mit Nitrat als Stickstoffquelle auszukommen, zeigte zwar in den Natriumnitrat-Rohrzuckerkulturen eine etwas weniger kräftige Entwickelung als mit Ammoniumkarbonat, gedieh aber auch dort keineswegs

	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Ursprünglich zugesetzt	10,04	—	—
steril	2,56	1,67—2,07	4,23—4,63
Rosa Hefe	—	10,33	10,33
Bac. Freudenreichii	1,32	4,30	5,62
Bact. ochraceum	2,24	4,24	6,48
Bact. coli Var.	2,22	8,34	10,56

kümmerlich. Sie hat in dem quantitativen Versuche das Ammoniumkarbonat beinahe ganz vor Verdunstung schützen können; nur 13 Proz. des Stickstoffes waren entwichen.

Von den Ammoniumkarbonatplatten wurden 4 Stämme abgeimpft, die sich bei näherer Prüfung alle als mehr oder weniger abweichende Formen von Bac. Freudenreichii erkennen ließen (drei wurden isoliert mit Rohrzucker, einer mit Dextrin als Kohlenstoffquelle). Daß Bac. Freudenreichii so reichlich in den stark alkalischen Ammoniumkarbonatlösungen vertreten war, weist schon auf seine Funktion als Harnstoffspalter hin, wenn auch allerdings unter Umständen diese Fähigkeit verschwinden kann[1]).

Von der Ammoniumkarbonat-Milchzuckergußkultur wurde ein schlankes Stäbchen (1 μ breit, 2—3 μ lang) gewonnen, das meines Erachtens zu Bact. ochraceum gestellt werden muß.

Von demselben Medium wurden noch 2 Stämme isoliert, die in die Coli-Gruppe zu stellen sind. Man kann sie auch als gasbildende Varietäten von Bact. radiobacter bezeichnen. Sie gediehen sehr gut mit Ammoniumkarbonat als Stickstoffquelle und assimilierten, wie aus der vorhergehenden Tabelle zu ersehen, während der Dauer des Versuches reichlich 64 Proz. des zugesetzten Ammonstickstoffes; 22 Proz. waren noch als Ammoniak vorhanden, das übrige war verflüchtigt.

Außerdem wurden (mit Dextrin als Kohlenstoffquelle) noch zwei Stämme beobachtet, die ebenfalls als Radiobacter-Varietäten aufgefaßt werden mußten.

Beide Varietäten entwickelten sich gut in der Ammoniumkarbonat-Dextrinlösung und assimilierten das Ammoniak lebhaft. Nach 3 Wochen ergab die Prüfung mit Nesslers Reagens ein negatives Resultat.

Von der Magnesiumammoniumphosphat-Rohrzuckergußkultur wurde ein Schimmelpilz isoliert, der ein dem Penicillium crustaceum ähnliches Verhalten zeigte. Auf der Gelatineplatte erzeugte dieser Pilz einen hellgrünen Sporenrasen, während dieser auf der Magnesiumammoniumphosphat-Rohrzuckeragarplatte dunkelgrau bis schwarz aussah. Er assimilierte den Stickstoff aus dieser Verbindung recht gut.

Als zweiter Organismus fand sich auf derselben Platte Streptothrix odorifera vor.

Bei Verwendung derselben Stickstoffquelle, aber in Verbindung mit Mannit, wurde neben Bact. fluor. liquefaciens ein Stamm gewonnen, der in die Coli-Gruppe zu rechnen ist oder als eine gasbildende Varietät von Bact. radiobacter aufgefaßt werden kann. Mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle wurden dieselben Organismen beobachtet wie bei Verwendung von Mannit.

---

[1]) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. p. 714—723.

Besonders mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle assimilierten die isolierten Stämme das Ammoniak sehr gut. Quantitative Versuche wurden wegen der Schwerlöslichkeit des Magnesiumammoniumphosphates und im Hinblick auf die dadurch verursachten analytischen Schwierigkeiten nicht ausgeführt.

In der Nährflüssigkeit mit Chlorammonium in Verbindung mit Rohrzucker + Glyzerin kamen nur Schimmelpilze zur Entwickelung. Isoliert wurden Mucor mucedo (Rhizopus nigricans) und Penicillium glaucum. Beide assimilierten das Ammoniak aus der gegebenen Kombination ganz ausgezeichnet. Mucor mucedo hatte schon innerhalb 14 Tagen 20,18 mg Ammonstickstoff restlos festgelegt.

Die von mir untersuchten Säureamide und Amidosäuren wurden in Reinkultur sämtlich gut assimiliert.

Von der Formamidplatte (mit Calciumacetat als Kohlenstoffquelle) wurde ein Schimmelpilz, Mucor racemosus, abgeimpft, der sich schon in der ersten Gußkultur in Reinkultur vorfand. Dieser Pilz kommt mit den beiden genannten Nährstoffen ausgezeichnet fort; die Endreaktion war ziemlich stark alkalisch. 19,83 mg Stickstoff wurden als Formamid zugesetzt. Nach 18 Tagen ließ sich kein Amid mehr nachweisen; auch die Prüfung mit Nesslers Reagens ergab ein negatives Resultat. Ein Auftreten von Nitrat oder Nitrit wurde in den Reinkulturen bei Zusatz von Säureamiden und Amidosäuren, wie auch von Ammoniaksalzen nie beobachtet. Verluste an Gesamtstickstoff hatten nicht stattgefunden: innerhalb 18 Tagen hatte also dieser Schimmelpilz 19,83 mg Amidstickstoff restlos aufgenommen. Man hat hier ein Beispiel, daß eine im allgemeinen als schlecht oder weniger gut bezeichnete Kohlenstoffquelle (Essigsäure) mit der geeigneten Stickstoffquelle (Formamid) für bestimmte Organismen eine ausgezeichnete Nährwirkung ausüben kann.

Aus der Acetamid-Glyzerinkultur kamen 4 Bakterienstämme zur Isolierung, die sich mit Ausnahme eines unbestimmt gebliebenen Bacillus (beweglich, 0,75 μ breit, 1,5—3 μ lang; auf gewöhnlichen Fleischnährboden nicht wachsend) in der betreffenden Nährlösung ausgezeichnet entwickelten. Der erste Stamm erwies sich mit Bact. fluor. liquefaciens identisch. Er assimilierte das Acetamid, in welcher Form 20,67 mg Stickstoff verabreicht wurden, sehr energisch. Nach 18 Tagen ließ sich kein Amid mehr nachweisen, ebensowenig Ammoniak. Das Amid war ohne Verlust assimiliert worden.

Als zweiter ebenfalls kräftig Acetamid assimilierender Organismus kam ein Stamm zur Beobachtung, der als eine Uebergangsform von Bac. Freudenreichii zu Bac. pumilus zu betrachten war.

Die dritte isolierte Form war mit Bac. pumilus wahrscheinlich identisch. Bei den quantitativen Versuchen gab sie Veranlassung zu einem ziemlich großen Stickstoffverlust. Es waren 20,67 mg Stickstoff in Form von Acetamid verabreicht worden. In der sterilen Lösung waren 1,47 mg organischer Stickstoff vorhanden, an Gesamtstickstoff also 22,14 mg. Nach 27 Tagen war kein Amid oder Ammoniak mehr nachzuweisen.

Die Verbrennung nach Kjeldahl ergab einen Gesamtstickstoffgehalt von 14,47 mg, also einen Stickstoffverlust von 7,65 mg, oder ca. 37 Proz. des zugesetzten Amidstickstoffes. Bac. pumilus gab, wenn Asparagin als Stickstoffquelle dargereicht wurde, zu ähnlichen Verlusten Veranlassung; später werde ich hierauf zurückkommen.

Mit Harnstoff als Stickstoffquelle wurden einige Formen isoliert, die, wie zu erwarten war, zu den Harnstoffzersetzern gehörten oder ihnen doch nahe standen. Als erster Stamm wurde eine Bac. Freudenreichii-Varietät gefunden. Dieser Stamm assimilierte den Harnstoff sehr gut. 14,82 mg Stickstoff wurden in dieser Form zugesetzt. Nach 18 Tagen ergab die Prüfung auf Harnstoff (und weitere Säureamide), sowie auf Ammoniak ein negatives Resultat. Stickstoffverluste waren nicht zu verzeichnen.

Als zweiter Stamm wurde hier eine nicht fluoreszierende, Gelatine sehr langsam verflüssigende Form von Bact. fluorescens isoliert.

Weiter wurde noch eine andere, wahrscheinlich mit Bac. Freudenreichii identische Form gewonnen, die auf den Fleischnährböden, Milch und Kartoffel so gut wie keine Entwickelung zeigte. Die beiden letzteren Stämme assimilierten nur wenig vom zugesetzten Harnstoff.

Mit derselben Stickstoffverbindung, aber mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle, wurde ein Stäbchen isoliert, das seinem ganzen Verhalten nach zu Bact. ochraceum Lehm. et Neum.[1]) gestellt werden muß.

Von der Harnstoff-Calciumlaktatgußkultur wurden außerdem noch 2 Stämme gewonnen, die drei aus der Asparagin-Rohrzucker-Glyzerinlösung isolierten Kulturen in mancher Beziehung entschieden ähnelten, die aber andererseits doch auch solche großen Unterschiede zeigten, daß man die beiden äußersten Formen sicher für zwei ganz verschiedene Arten hätte halten können, wenn nicht die dazwischen liegende Reihe von Uebergangsformen sie als verwandt hätte erkennen lassen. Meines Erachtens müssen alle als Varietäten des Bac. pumilus A. Meyer et Gottheil[2]) betrachtet werden. Es liegt hier abermals ein prägnantes Beispiel dafür vor, wie wichtig, ja geradezu erforderlich, ausführliche Anhäufungsversuche sind, um zu einem richtigen Artenverständnis zu gelangen.

Die verschiedenen Pumilus-Varietäten assimilierten den Harnstoff nur langsam, zersetzten ihn aber vollständig. Von 14,82 mg Stickstoff, die in Form von Harnstoff verabreicht worden waren, war nach 27 Tagen als solcher nichts mehr nachzuweisen. Ammoniak war aber sehr reichlich vorhanden, nämlich eine 11,16 mg Stickstoff enthaltende Menge, entsprechend 70 Proz. des Harnstoffstickstoffes. Ein bedeutender Stickstoffverlust hatte nicht stattgefunden: nur 0,7 mg waren entschwunden.

Guanidinkarbonat mit Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle wurde sehr gut durch die isolierten Reinkulturen assimiliert. Drei Organismen, Bact. putidum Lehm. et Neum., Streptothrix odorifera und Ustilago longissima wurden von diesem Nährboden isoliert. Die Assimilation gestaltete sich folgendermaßen (Versuchsdauer 27 Tage):

Species	NH_3 mg N	Amid mg N	„Eiweiß“ mg	Ges.-N mg
steril	—	20,09	1,75	21,84
Bact. putidum L. et N.	0,84	—	20,44	21,28
Streptothrix odorifera	0,84	—	20,30	21,14
Ustilago longissima	—	Spur	16,37	?

Bei Bact. putidum L. et N. und Streptothrix odorifera war nach 27 Tagen Guanidinkarbonat nicht mehr nachzuweisen, und als

---

1) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik. 4. Aufl. 1907. p. 358.
2) Lehmann und Neumann l. c. p. 434.

Ammoniak waren in beiden Fällen nur noch 0,84 mg Stickstoff vorhanden. Beide Organismen sind also imstande, Guanidin unter Bildung von Ammoniak zu zersetzen. Erhebliche, außerhalb der Fehlergrenze fallende Verluste haben nicht stattgefunden.

Bei Ustilago longissima wurde die Pilzmasse abfiltriert, als die Lösung noch eine, quantitativ nicht mehr bestimmbare Spur Guanidinkarbonat enthielt und deren Stickstoffgehalt bestimmt.

Derselbe betrug 16,37 mg. Von dem Guanidin wurden also 16,37—1,75 = 14,62 mg Stickstoff, oder ca. 73 Proz. assimiliert. Eine Ammoniakbildung war nicht zu verzeichnen gewesen. Die übrigen 27 Proz. Stickstoff waren teils noch als Guanidin vorhanden, teils können sie in Ausscheidungsprodukten enthalten gewesen oder verloren gegangen sein (eine Gesamtstickstoffanalyse wurde nicht ausgeführt).

Harnsäure wurde in den quantitativen Versuchen mit Reinkulturen, wie in denjenigen mit Rohkulturen mit Rohrzucker + Glyzerin und mit Mannit als Kohlenstoffquelle angewandt. Aus der ersten Nährlösung wurden 3 Bakterienstämme isoliert, von denen zwei sich als Uebergangsformen von Bact. pneumoniae zu Bact. aërogenes erwiesen.

Von den als Harnsäure zugesetzten 19,39 mg Stickstoff war nach 27 Tagen nur noch eine Spur als solche vorhanden; das übrige war ohne Stickstoffverlust assimiliert worden.

Als dritter Stamm wurde Bact. chrysogloea isoliert. Es assimilierte die Harnsäure weniger gut als die beiden Bact. pneumoniae-Varietäten.

Aus den Kolben, die Mannit als Kohlenstoffquelle enthielten, wurden 4 Stämme gewonnen. Der erste war am meisten Bact. ochraceum ähnlich, gedieh aber nur schlecht auf den Fleischnährböden. 2 Stämme waren mit Bact. radiobacter identisch. Diese Radiobacter-Varietäten sind imstande, Harnsäure unter Ammoniakbildung zu zersetzen. In Form der genannten Verbindung wurden 16,80 mg Stickstoff verabreicht. Nach 24 Tagen versagte die Harnsäurereaktion. Als Ammoniak waren dann 0,66 mg Stickstoff vorhanden. Der Gesamtstickstoffgehalt der Kulturen betrug am Ende des Versuches 14,46 mg, während die sterilen Lösungen 18,90 mg Stickstoff enthielten. Es hat also ein verhältnismäßig großer, ca. 26 Proz. der gegebenen Menge betragender Stickstoffverlust stattgefunden.

Als vierter Organismus wurde Penicillium glaucum isoliert, der bei stark alkalischer Reaktion sehr gut gedieh und die Harnsäure unter Ammoniakbildung zerlegte. Nach 24 Tagen wurde die Pilzmasse abfiltriert und analysiert: sie enthielt 15,61 mg Stickstoff. Harnsäure war nicht mehr nachzuweisen. Als Ammoniak waren 1,64 mg Stickstoff vorhanden. Die sterilen Kolben enthielten 18,90 mg Stickstoff. 18,90 — (15,61 + 1,64) = 1,65 mg Stickstoff sind demnach in Verlust geraten.

Die Hippursäure wurde (nach Neutralisation mit Na_2CO_3) in Kombination mit Rohrzucker und mit Galaktose für die Assimilationsversuche benutzt. In ersterer Nährlösung kamen nur Schimmelpilze zur Entwickelung. Isoliert wurde ein Pilz, der sich Cordicyps militaris (Linné)[1]) sehr ähnlich verhielt, und die Hippursäure kräftig assimilierte.

---

[1]) Zopf, Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung. Breslau 1890. p. 458, 459.

Nach 24 Tagen ergab die Prüfung auf Hippursäure, von der eine 14,71 mg Stickstoff enthaltende Menge gegeben worden war, ein negatives Resultat. Auch Ammoniak ließ sich nicht nachweisen. Ein Stickstoffverlust hatte nicht stattgefunden: in den sterilen Lösungen betrug der Gesamtstickstoffgehalt 16,73 mg, in den geimpften Kolben 16,82 mg. Die Endreaktion war stark alkalisch.

Von den 3 mit Galaktose als Kohlenstoffquelle isolierten Stämmen erwies sich einer als mit Bact. erythrogenes identisch. Als zweiter Stamm kam ein Stäbchen zur Prüfung, das sich wieder dem Bac. Freudenreichii sehr ähnlich verhielt.

Der letzte Organismus war wahrscheinlich mit Septosporium bifurcum Fres.[1]) identisch.

Bact. erythrogenes assimilierte die Hippursäure gut. In Form dieser Stickstoffverbindung wurden 14,71 mg Stickstoff verabreicht. Nach 24 Tagen waren Hippursäure, wie auch Säureamide, nicht mehr nachzuweisen. Als Ammoniak waren dann 1,05 mg vorhanden. Stickstoffverluste waren nicht zu verzeichnen. Septosporium bifurcum Fres. assimilierte bei stark alkalischer Reaktion innerhalb 24 Tagen 14,71 mg Stickstoff als Hippursäure. Mit der Freudenreichii-Varietät, die bei der qualitativen Prüfung ein ziemlich schwaches Wachstum in der Nährflüssigkeit zeigte, wurden keine quantitativen Versuche angestellt.

Aus der Kultur mit Leucin und Milchzucker wurden 4 Stämme isoliert, die sämtlich in der genannten Nährlösung ausgezeichnet fortkamen. Die erste Form erwies sich bei eingehender Prüfung als mit Bac. pumilus identisch, der innerhalb 27 Tagen 14,11 mg Stickstoff, die in Form von Leucin verabreicht wurden, vollständig zersetzte. Ammoniak war nach Verlauf dieser Zeit nicht mehr nachzuweisen; Verluste hatten nicht stattgefunden.

Weiter wurden Bact. chrysogloea und Bact. fluor. liquefaciens auf dem genannten Nährboden isoliert. In die Kolben, die mit Bact. fluorescens geimpft wurden, waren ebenfalls 14,11 mg Stickstoff in Form von Leucin gegeben. Nach 27 Tagen ergab die Prüfung auf Leucin ein negatives Resultat. Ammoniak war nicht nachzuweisen, auch nicht nach Behandlung mit Aetzkali: demzufolge sind auch keine Säureamide als Stoffwechselprodukte vorhanden gewesen. Hier war ein geringer Stickstoffverlust zu verzeichnen: die sterilen Kolben enthielten am Ende des Versuches 16,81 mg Stickstoff, die geimpften 14,51 mg.

Der vierte Stamm zeigte die Proteus-Form (Bact. vulgare Lehm. et Neum.). In der Leucinlösung gedieh diese Form gut, assimilierte aber das Leucin doch nicht so kräftig wie die vorherbesprochenen Stämme.

Tyrosin und Milchzucker ließen keine Bakterien zur Entwickelung kommen. Zuerst wurde Oidium lactis abgeimpft, das auf diesem Nährboden ein gutes Wachstum zeigte. Weiter kam Mucor mucedo zur Entwickelung. Nach 27 Tagen hatte sich bei alkalischer Reaktion eine große Pilzmasse in der genannten Nährlösung gebildet. Tyrosin konnte nicht mehr nachgewiesen werden. Auch die Ammoniakreaktion versagte. In den sterilen Kolben befanden sich 12,62 mg Gesamtstickstoff, von denen 10,55 mg als Tyrosin zugesetzt worden waren. Die Pilzmassen wurden abfiltriert und analysiert; sie enthielten 10,88 mg Stickstoff. Die Kulturflüssigkeit enthielt noch 1,68 mg organischen

---

1) Zopf, l. c. p. 483.

Stickstoff. Man muß hier also annehmen, daß der Pilz nicht nur das verabreichte Tyrosin vollständig assimiliert hat, sondern auch noch etwas von dem im Bodenextrakt in organischer Form[1]) vorhandenen Stickstoff. Jedenfalls geht aus diesem Versuch deutlich hervor, daß die zugesetzte Stickstoffverbindung (Tyrosin), wenn nicht ganz, so doch sicher beinahe vollständig in die Mikroorganismenleiber übergegangen ist, und daß nur sehr wenige oder gar keine Stoffwechselprodukte vorhanden gewesen sein können.

Aus den Asparaginkulturen mit Rohrzucker und mit Rohrzucker + Glyzerin wurden 7 Bakterienstämme, ein Schimmelpilz und ein Sproßpilz isoliert. Merkwürdig ist, daß die Substitution der einen Hälfte Zucker durch Glyzerin sofort solche Veränderungen in der Nährflüssigkeit hervorrief und dadurch in den Anhäufungskulturen ganz andere Lebensbedingungen geboten waren, so daß von den aus der Asparagin-Rohrzuckerlösung isolierten 5 Stämmen nicht ein einziger identisch war mit einem der 4 Stämme, die in den Kolben auftraten, die Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle enthielten.

Die Asparagin-Rohrzuckernährflüssigkeit ist für einen „vollkommenen“ Anhäufungsversuch sehr wenig geeignet: die aus dieser Lösung gewonnenen 5 Stämme erwiesen sich als ebenso viele verschiedene Arten. Der erste Stamm war mit dem gewöhnlichen Bact. fluorescens liquefaciens identisch; der zweite mit Bact. chrysogloea. Bact. fluorescens entwickelte aus Asparagin Ammoniak und zeigte gutes Wachstum; bei Bact. chrysogloea war dieses weniger der Fall. Der dritte Stamm erwies sich als eine Torula-Hefe; sie verflüssigte die Gelatine nicht. Der Durchmesser der Zellen betrug 3—4 μ. Die Fleischkulturen gaben einen unangenehmen Geruch nach Trimethylamin von sich. Diese Hefe assimilierte das Asparagin, in welcher Form 13,83 mg Stickstoff zugesetzt wurden, sehr kräftig. Nach 18 Tagen ließ sich Asparagin nicht mehr nachweisen. Die Prüfung mit Nesslers Reagens ergab ebenfalls ein negatives Resultat. Die Torula-Hefe hatte das Asparagin vollständig ohne Stickstoffverluste zersetzt. Säureamide als Stoffwechselprodukte waren in der Flüssigkeit nicht nachzuweisen.

Als vierter Stamm wurde Bact. punctatum geprüft. Er assimilierte das Asparagin unter Ammoniakbildung. Nach 27 Tagen war Asparagin, von dem eine 13,83 mg Stickstoff enthaltende Quantität zugesetzt worden war, nicht mehr nachzuweisen. Als Ammoniak waren zu dieser Zeit 2,14 mg Stickstoff vorhanden. Ein Stickstoffverlust war nicht zu verzeichnen.

Die fünfte Form erwies sich als ein typisches Bact. radiobacter, das mit Asparagin gut gedieh und es unter Ammoniakbildung assimilierte.

Wenn ein Teil des Rohrzuckers bei Asparagin durch Glyzerin ersetzt wurde, entwickelte sich, wie schon gesagt wurde, eine ganz andere Bakterienflora. Zuerst wurde hier ein Pilz isoliert, der mit dem Thamnidium elegans (Link)[2]) viel Aehnlichkeit zeigte. Bei der quantitativen Prüfung wurden 30,45 mg Stickstoff in Form von Asparagin gegeben. Der Pilz entwickelte sich bei alkalischer Reaktion recht gut. Ammoniakbildung konnte ich nicht beobachten. Nach 18 Tagen, als noch Asparagin

---

1) Schon früher wurde bemerkt, daß das Bodenextrakt keine mit Diphenylaminschwefelsäure und Nesslers Reagens nachweisbare Mengen Nitrat, Nitrit und Ammoniak enthielt.

2) Zopf, l. c. p. 317.

in der Lösung vorhanden war, wurde die Pilzmasse abfiltriert und analysiert: sie enthielt 16,41 mg Stickstoff. In dieser Zeit hatte der Pilz also reichlich die Hälfte des verabreichten Stickstoffes aufgenommen.

Die übrigen 3 Stämme, die von der Asparagin-Rohrzucker-Glyzerin-Gußkultur abgeimpft wurden, waren wahrscheinlich Varietäten des Bac. pumilus. Die Asparaginassimilation dieser Pumilus-Stämme bot manches Interessante. Wie früher schon erwähnt wurde, hatte eine Pumilus-Varietät bei Acetamid in Verbindung mit Glyzerin zu einem ziemlich großen Stickstoffverlust (ca. $^1/_8$ der Gesamtstickstoffmenge) Veranlassung gegeben, der Harnstoff-Calciumlaktat-Pumilus-Stamm dagegen zwar sehr viel Ammoniak gebildet, aber keinen bemerkenswerten Stickstoffverlust verursacht. Die Asparagin-Pumilus-Formen haben wieder einen sehr starken Stickstoffverlust hervorgerufen, und zwar die beiden quantitativ untersuchten Stämme in gleichem Grade:

Species	NH$_3$ mg N	Asparagin mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg
steril	—	30,45	1,49	31,94
Bac. pumilus. Stamm I	—	—	15,41	15,41
Bac. pumilus. Stamm II	—	—	15,70	15,70

Wie man aus der obenstehenden Tabelle ersieht, beträgt der Stickstoffverlust fast genau die Hälfte des zugesetzten Asparagins (Versuchsdauer 18 Tage). Die Reaktion war am Ende des Versuches wie am Anfang neutral. Die Erscheinung, daß beinahe genau die Hälfte des verabreichten Stickstoffes verloren gegangen ist, macht es wahrscheinlich, daß nur die auf eine Weise gebundene Amidogruppe assimiliert worden ist, während die andere Bindung, vermutlich die an der Carboxylgruppe gebundene, gelöst wurde und als Ammoniak entwich.

Die Asparaginsäure wurde mit Natriumkarbonat neutralisiert und mit Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle untersucht. Von den drei aus dieser Lösung isolierten Stämmen waren zwei typische Formen des Bact. radiobacter. Nach 27 Tagen hatten sie eine 12,17 mg Stickstoff enthaltende Menge Asparaginsäure vollständig zersetzt. Vorübergehend trat eine schwache Ammoniakbildung auf. Nach 27 Tagen war kein Ammoniak mehr nachzuweisen; Stickstoffverluste fanden nicht statt.

Die Ammoniaksalze der organischen Säuren wurden manchmal gut assimiliert. Im allgemeinen kann man aber wohl sagen, daß die mikrobiologische Assimilation der vorher besprochenen Amide und Amidosäuren besser und leichter von statten geht, als diejenige der Ammoniumverbindungen der organischen Säuren.

Aus der Ammoniumformiat-Trauberzuckerlösung wurden 2 nicht sehr kräftig wachsende Stämme von Bact. chrysogloea isoliert. Ebenso wie diese, zeigte auch die ebenfalls in der Lösung auftretende Sporodinia grandis Link nur eine sehr schwache Assimilationsfähigkeit. Von 9,94 mg als ameisensaures Ammonium zugesetztem Stickstoff waren nach 27 Tagen (bei schwach alkalischer Reaktion) noch 8,76 mg unverändert vorhanden.

Von der Ammoniumacetat-Rohrzucker-Glyzerinplatte wurden 4 Stämme abgeimpft, von denen zwei sich als nur wenig von der Grundform differierende Formen des Bact. vulgare erwiesen. Beide Varietäten assimilierten in der Nährflüssigkeit das Ammoniumacetat sehr kräftig unter Bildung eines schleimig-flockigen Bodensatzes: nach 18 Tagen ließ sich kein Ammoniak mehr nachweisen.

Der dritte Stamm erwies sich bis auf das Fehlen des Gelatineverflüssigungsvermögens als ein typischer Bac. pumilus, der das Ammoniumacetat in der Nährlösung sehr lebhaft assimilierte. Zugesetzt wurden in dieser Form 21,99 mg Stickstoff. Nach 18 Tagen war die Reaktion mit Nesslers Reagens verschwunden und das Ammoniak restlos aufgenommen worden. Der vierte Stamm war mit Bact. ochraceum Lehm. et Neum. identisch. Er assimilierte das essigsaure Ammonium in der Nährflüssigkeit noch besser als Bac. pumilus. Die sterilen Kolben enthielten am Ende des Versuches 23,48 mg Gesamtstickstoff, von denen 21,99 mg in Form von Ammoniumacetat zugesetzt worden waren. Schon nach 14 Tagen war in den geimpften Gefäßen Ammoniak nicht mehr nachzuweisen; der Gesamtstickstoff betrug 26,12 mg; es war also ein Stickstoffgewinn von 2,64 mg zu verzeichnen. Ob Bact. ochraceum tatsächlich imstande ist, in dieser Nährlösung Stickstoff zu fixieren, habe ich nicht näher untersucht.

Buttersaures Ammonium wurde in Verbindung mit Traubenzucker als Kohlenstoffquelle angewandt. Nur Schimmelpilze kamen in dieser Lösung zur Entwickelung, und zwar bei stark alkalischer Reaktion. Isoliert wurde nur eine mit Septosporium bifurcum Fres. nahe verwandte Form, die das Ammoniumbutyrat in Gegenwart von Traubenzucker lebhaft aufnahm. Nach 18 Tagen war die Ammoniakreaktion verschwunden und die 18,59 mg Stickstoff enthaltende Ammoniakmenge restlos assimiliert worden.

Das oxalsaure Ammonium (als neutrales Ammoniumsalz) wurde in Kombination mit Milchzucker geprüft. Aus dieser Lösung wurden vier Stämme isoliert, von denen zwei sich als auf den gewöhnlichen Fleischnährböden schlecht wachsende, die Milch nicht verändernde Rassen des Bact. chrysogloea erwiesen. Beide assimilierten das Ammonium aus dem Oxalat nur sehr langsam. Ebenso verhielt sich der dritte isolierte Organismus, Mucor mucedo. Weiter wurde von der Ammoniumoxalat-Gußkultur noch ein wiederum bis auf das Fehlen des Gelatineverflüssigungsvermögens typischer Bac. pumilus-Stamm abgeimpft. Auch diese Varietät assimilierte wenig. Ebenso wie in den Rohkulturen scheint auch in den Reinkulturen (und hier in noch höherem Grade) das Ammoniak aus der oxalsauren Bindung — mit Milchzucker als Kohlenstoffquelle — schlecht assimiliert zu werden.

Bernsteinsaures Ammonium (als neutrales Ammoniumsalz) wurde in Kombination mit Rohrzucker + Glyzerin in Reinkultur von den Mikroorganismen bedeutend besser verwertet als das oxalsaure Salz. Von den fünf auf diesem Nährboden isolierten Stämmen waren zwei mit Bact. chrysogloea identisch, ein dritter stand dem Oidium tonsurans (Trichophyton tonsurans Malmstein)[1]) sehr nahe. Alle 3 Kulturen zeigten keine kräftige Assimilationsfähigkeit: nach 20 Tagen war noch eine starke Ammoniakreaktion zu verzeichnen.

Ferner wurde Bact. putidum Flügge gefunden, das ausgezeichnet in der stark fluoreszierenden Nährlösung gedieh. In Form von Ammoniumsuccinat wurden 19,69 mg Stickstoff zugesetzt. Schon nach 14 Tagen war die Reaktion mit Nesslers Reagens verschwunden und das Ammoniak restlos aufgenommen worden.

Bedeutend weniger kräftig assimilierte der fünfte Stamm, der in

---

1) Zopf, l. c. p. 482.

18 Tagen nur ca. 4 mg Stickstoff aus der Ammoniumverbindung aufnahm. Er stellt meines Erachtens einen Uebergang zwischen Bact. radiobacter und Bact. coli dar.

Von der Ammoniumlaktat-Glyzerin-Gußkultur wurden 4 Stämme abgeimpft. Zwei Formen erwiesen sich als schwach wachsende, das milchsaure Ammonium nur langsam assimilierende Bact. chrysogloea-Varietäten.

Weiter wurden Bact. putidum Flügge (Lehmann et Neumann[1]) und ein Bact. radiobacter-Stamm isoliert. Beide Formen assimilierten in der Lösung mit Glyzerin als Kohlenstoffquelle das milchsaure Ammonium, in welcher Verbindung 17,46 mg Stickstoff verabreicht worden waren, sehr lebhaft. Nach 18 Tagen war die Ammoniakreaktion verschwunden und sämtlicher Stickstoff, wie die Gesamtstickstoffanalysen ergaben, ohne Verlust assimiliert worden.

Aepfelsaures Ammonium (als saures äpfelsaures Ammonium angewandt) wurde den Versuchskolben kombiniert mit Dextrin zugesetzt. Aus dieser Nährlösung wurden zwei Bact. putidum-Stämme isoliert. Sodann wurde ein Organismus abgeimpft, der bis auf ein geringes Peptonisierungsvermögen der Milchkultur die Eigenschaften eines schwach verflüssigenden Bact. vulgare Lehmann et Neumann zeigte.

In den mit den Putidum-Stämmen geimpften Kolben war ein nicht unerheblicher Stickstoffverlust zu verzeichnen, was ich sonst bei den quantitativen Versuchen mit organischen Ammoniumsalzen nie beobachtete (Versuchsdauer 26 Tage):

Species	NH_3 mg N	Org. N mg N	Ges.-N mg
steril	15,96	1,75	17,71
Bact. putidum. Stamm I	4,76	7,20	11,96
Bact. putidum. Stamm II	5,08	5,88	10,96

Wie aus obenstehender Tabelle zu ersehen ist, wurde nur wenig Ammoniak assimiliert: 36 Proz., resp. 42 Proz. des im Ammoniummalat zugesetzten Stickstoffes gingen verloren.

Weinsaures Ammonium (als neutrales Ammoniumsalz) wurde, wenn nebenbei Glyzerin gegeben war, von einigen Mikroorganismen in Reinkultur sehr gut assimiliert. Auf diesem Nährboden wurde ein kleines Stäbchen (0,5—0,75 μ breit, 1—1,5 μ lang) isoliert, das auf den Fleischnährböden in der Milch und auf Kartoffel absolut kein Wachstum zeigte und daher unbestimmt bleiben mußte. Auf Ammoniumtartrat-Glyzerin-Agar gedieh es vorzüglich, und in der Nährlösung assimilierte es das weinsaure Ammonium kräftig.

Weiter wurden 2 Bact. radiobacter-Stämme abgeimpft. Sie assimilierten das Ammoniak gut; innerhalb 18 Tagen wurden 13,41 mg Stickstoff in dieser Form restlos aufgezehrt.

Als vierter Stamm wurde eine Form isoliert, die meines Erachtens als eine milchpeptonisierende Varietät des Bact. Freudenreichii aufgefaßt werden muß. Dieser Stamm zeigte ein geringeres Assimilationsvermögen in der Nährlösung als Bact. radiobacter: in 27 Tagen waren ca. 6 mg Stickstoff aus Ammoniumtartrat aufgenommen worden.

Ammoniumcitrat, als neutrales, zitronensaures Ammonium gegeben, wurde mit Rohrzucker und mit Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle geprüft. Wie in den mit Asparagin durchgeführten Versuchen, ließ auch hier die Substitution eines Teiles des Rohrzuckers durch Glyzerin ganz andere Mikroorganismen zur Entwickelung kommen.

---

[1] Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik. 4. Aufl. 1907. p. 377.

Von den 4 aus der Kultur mit Rohrzucker als Kohlenstoffquelle isolierten Stämmen gehörten nicht weniger als drei zu Bac. pumilus, wenn auch in etwas voneinander abweichenden Varietäten. 2 Stämme assimilierten nur wenig Ammoniumcitrat. Der dritte zeigte dagegen ein viel größeres Assimilationsvermögen. Als zitronensaures Ammonium wurden den Versuchskolben 10,82 mg Stickstoff zugesetzt. Innerhalb 18 Tage wurde diese Menge restlos und ohne Verlust aufgezehrt. Der vierte Stamm, der auf diesem Nährboden zur Isolierung kam, erwies sich als ein das Ammoniumcitrat kräftig assimilierendes Bact. putidum.

Mit Rohrzucker + Glyzerin als Kohlenstoffquelle kamen mit derselben Stickstoffquelle 6 Stämme zur Isolierung, von denen nicht weniger als drei sich als Bact. fluorescens erwiesen. Sie assimilierten das Ammoniumcitrat ausgezeichnet. 2 Stämme wurden quantitativ auf ihre Assimilationsfähigkeit untersucht. Es wurden als Ammoniumsalz 14,46 mg Stickstoff zugesetzt: schon nach 14 Tagen war die Reaktion mit Nesslers Reagens verschwunden und das Ammoniak ohne Verlust assimiliert worden. Weiter wurden 2 Stämme von Penicillium glaucum isoliert, die in derselben Zeit (bei schwach alkalischer Reaktion) genau dasselbe leisteten, wie die Fluorescens-Stämme.

Der letzte Stamm zeigte auf den gewöhnlichen Nährböden ein schlechtes Wachstum und blieb infolgedessen unbestimmt; auch in der Citratnährlösung gedieh er kümmerlich.

Nitrifikationsversuche.

Von hoher Bedeutung für die Landwirtschaft ist die Form, in welche die im Boden vorhandenen Stickstoffverbindungen durch die Mikroorganismentätigkeit übergeführt werden.

Ich hatte schon öfters Gelegenheit, darauf hinzuweisen, daß die Schimmelpilze, wo dies durch die bequeme Filtrierbarkeit der Pilzmassen am leichtesten konstatiert werden konnte, weitaus den größten Teil der zugesetzten Stickstoffverbindung tatsächlich ihrer Körpersubstanz einverleibt hatten [1]). Die nachstehenden Zahlen lassen dies deutlich hervortreten.

Species	N als	steril				geimpft				
		N_2O_5 mg N	Amid mg N	„Eiweiß" mg N	Ges.-N mg	NH_3 mg N	N_2O_5 mg N	Amid mg N	Pilzsubstanz-N mg	Ges.-N mg
Penicillium glaucum	$NaNO_3$	13,04	—	1,42	14,47	3,46	2,34	—	9,11	14,92
Rohkultur	Formamid	—	19,39	7,53	26,92	4,83	—	—	15,74	?
Penicillium glaucum	Harnsäure	—	16,80	2,10	18,90	1,64	—	—	15,61	?
Ustilago longissima	Guanidin	—	20,09	1,75	21,84	—	—	Spur	16,37	?
Mucor mucedo	Tyrosin	—	10,55	2,07	12,62	—	—	—	10,88	12,56

Penicillium glaucum hat aus dem Natriumnitrat ungefähr 70 Proz. des Stickstoffes aufgenommen. Das Uebrige war als Ammoniak und Nitrat in der Lösung vorhanden. Abgesehen vom Ammoniak, das weiter assimiliert werden konnte, waren hier also keine Ausscheidungsprodukte in der Lösung nachzuweisen. Aehnlich lagen die Verhältnisse in der Rohkultur bei Verabreichung von Formamid als Stickstoffquelle. Bei dem Versuche mit Mucor mucedo, wo Tyrosin als Stickstoffquelle

---

1) Vgl. Iwanow, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIX. 1903. p. 31.

zugesetzt wurde, muß angenommen werden, daß nicht allein der im Tyrosin enthaltene Stickstoff vollständig assimiliert, sondern auch noch ein Teil des im Bodenextrakt vorhandenen organischen Stickstoffes in Anspruch genommen wurde. Stoffwechselprodukte scheinen demnach hier gar nicht vorhanden gewesen zu sein.

Bei den Bakterien ließen sich die Verhältnisse nicht so klar überblicken, weil hier die Kulturen nicht abfiltriert und getrennt analysiert wurden. Wahrscheinlich aber sind auch hier nicht viele Ausscheidungsprodukte in der Lösung vorhanden gewesen. In den Bakterienkulturen konnte bei Erhitzung mit Aetzkali nie, soweit nicht noch ein Teil des zugesetzten Amides zugegen war, Ammoniakentwickelung konstatiert werden: es dürften also wohl keine Säureamide als Stoffwechsel- oder Abbauprodukte in den Lösungen enthalten gewesen sein.

Es schien mir nicht uninteressant zu untersuchen, wie die Nitrifikation aus der organischen Masse verschiedener Mikroorganismenarten sich verhält, und zwar sowohl in abgetötetem, sterilisiertem als auch in natürlichem, nicht sterilisiertem Zustande. Die Nitrifikationsversuche wurden in je 300 g Erde (vom Versuchsfelde des landwirschaftlichen Institutes) ausgeführt, die dazu auf flachen Tellern ausgebreitet, für eine möglichst günstige Nitrifikation immer feucht gehalten und zwecks intensiver Durchlüftung häufig umgeschaufelt wurde. Um das Wachstum der Salpeterbildner zu befördern, wurde auch etwas Calciumkarbonat hinzugefügt. Die organischen Massen wurden in großen 1 Liter-Kolben in Reinkultur — in der zu jeder Species gehörigen Nährlösung — erzeugt. Die Pilz- und Bakterienmassen wurden dann durch je 150 g feinsten Seesand filtriert, wobei aber die Bakterien nur zum Teil zurückblieben; dann wurde mit Wasser öfters nachgespült, um die lösliche organische Substanz möglichst zu entfernen, und zuletzt gründlichst mit dem Sande gemischt. Weil öfters von dem wenig löslichen Calciumlaktat als Kohlenstoffquelle Gebrauch gemacht wurde, ist anzunehmen, daß auch hiervon etwas im Filtrationsrückstand enthalten war. Daß dieser Gehalt an organischer Kohlenstoffsubstanz die Nitrifikation etwas beeinträchtigt hat, ist nicht unmöglich, in hohem Grade ist dies jedoch, wie die in nachstehender Tabelle mitgeteilten Zahlen ergeben, jedenfalls nicht der Fall gewesen.

Ein Drittel des Sandgemisches wurde auf seinen Stickstoffgehalt untersucht, ein zweites Drittel in noch feuchtem Zustande mit je 300 g Erde gemischt, der letzte Teil bei 240° C sterilisiert und dann mit der Erde gemischt. Die Versuche wurden im Sommer bei Zimmertemperatur angestellt und dauerten 2 Monate.

Die benutzte Erde enthielt keine nachweisbaren Mengen Nitrat, Nitrit oder Ammoniak, wohl infolge des starken Regengusses, der einige Tage vor der Entnahme der Erdproben stattfand und etwa vorhandene Mengen löslicher Stickstoffverbindungen in den Untergrund spülte. Um die aus den zugesetzten organischen Massen etwa entstehenden Nitratmengen so genau als möglich bestimmen zu können, wurden als Parallelversuche zwei Teller mit je 300 g Erde ebenfalls mit 50 g Sand gemischt, aber ohne Zusatz der Mikroorganismensubstanz, um die hier auftretenden Nitratmengen von den bei den Versuchen gefundenen subtrahieren zu können. Nach 2 Monaten wurden die Bodenmengen so lange ausgewaschen, bis das Filtrat mit Diphenylaminschwefelsäure keine Blaufärbung mehr ergab. Das Ammoniak wurde dann durch vorheriges Kochen mit Natronlauge ausgetrieben und das Nitrat in alkalischer Lösung reduziert.

Folgende Mengen Nitrat wurden gefunden:

N als	C als	Species	„Eiweiß“-N zugesetzt mg	Nitrat-N nach 2 Monaten		Proz. des „Eiweiß“-N nitrifiziert worden	
				nicht sterilisiert	sterilisiert	nicht sterilisiert	sterilisiert
—	—	—	ohne Zusatz	6,78			
—	—	—	ohne Zusatz	6,72			
$NaNO_3$	Rohrzucker	Bact. agreste	17,37	5,62	9,82	—	18,0
$NaNO_3$	Ca-Laktat	Bact. pneumoniae zu Radiobacter	9,17	9,38	8,54	28,5	19,4
$Ca(NO_3)_2$	Mannit	Bact. radiobacter mit starker Schimmelpilzinfektion	51,57	9,61	11,36	5,9	8,9
$Ca(NO_3)_2$	Ca-Laktat	Bact. fluorescens	5,11	6,16	7,70	—	18,4
NH_4NO_3	Traubenzucker	Mucor racemosus	10,22	10,92	9,80	41,6	29,7
$(NH_4)_2SO_4$	Ca-Laktat	Bact. radiobacter	9,40	7,16	7,51	4,2	8,0
$(NH_4)_2SO_4$	Glyzerin	Penicillium glaucum	44,65	9,92	8,40	7,1	3,7
$(NH_4)_2SO_4$	Milchzucker	Penicillium glaucum	43,40	5,75	6,03	—	—
$(NH_4)_2CO_3$	Dextrin	Bac. Freudenreichii Var.	29,40	13,46	12,64	23,8	20,0
$(NH_4)_2CO_3$	Milchzucker	Bact. ochraceum	7,00	8,75	8,54	28,4	25,4

Wie die ohne Zusatz von Bakterien- oder Schimmelpilzsubstanz angestellten Versuche ergaben, war im Boden eine kräftige Nitrifikation zu verzeichnen; in je 300 g Erde waren 6,78 und 6,72, im Mittel 6,76 mg Nitratstickstoff entstanden. Die Sterilisation der Mikroorganismenmassen hat auf die Nitrifikation nur einen sehr geringen oder gar keinen Einfluß ausgeübt. Eine manchmal nicht unbedeutende Nitrifikation hat beinahe überall stattgefunden. Jedoch zeigte sich hier schon ein deutlicher Unterschied zwischen den verschiedenen Mikroorganismenarten in bezug auf ihre Widerstandsfähigkeit. Wie zu erwarten war, wurden die Schimmelpilzmassen bedeutend schwerer zersetzt als die Bakteriensubstanz. Bei Penicillium glaucum (aus der Ammoniumsulfat-Milchzucker-Nährlösung) war absolut keine Nitrifikation zu verzeichnen, bei demselben Organismus aus der Ammoniumsulfatlösung mit Glyzerin als Kohlenstoffquelle eine geringe. Daß bei Mucor racemosus sowohl absolut, wie auch relativ eine so viel stärkere Nitrifikation auftrat als bei Penicillium glaucum, und diese Pilzspecies hierin mit den Bakterien auf eine Linie gestellt werden kann, wird wohl darauf zurückgeführt werden müssen, daß bei Mucor racemosus, als die Pilzmassen abfiltriert wurden, noch keine Fruktifikation eingetreten war im Gegensatz zu Penicillium glaucum. Bei den Versuchen mit Bakterienmassen traten große Mengen Nitrat auf, z. B. bei Zusatz von Bac. Freudenreichii-Substanz in nicht sterilisiertem Zustande 6,7 mg.

Jedenfalls geht aus diesen Versuchen, die nur eine allgemeine Orientierung bezwecken, aufs deutlichste hervor, daß die einzelnen Mikroorganismenarten die in der Praxis verabreichten löslichen Stickstoffverbindungen in sehr verschieden lösliche und zersetzbare Formen überführen [1]). Spezielle Untersuchungen werden zeigen müssen, ob diese Erscheinung auch in der Praxis, z. B. bei einer neuen Art von Düngerkonservierung, nutzbar gemacht werden kann.

---

[1]) Vgl. auch Pfeiffer und Lemmermann, Landw. Versuchsstat. Bd. LIX. 1900. p. 425; weiter Krüger und Schneidewind, Landw. Jahrb. Bd. XXX. 1901. p. 602.

I. Assimilationsversuche mit Rohkulturen. Geimpft mit 10 Proz. Erde.

N als	C als	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril				geimpft			
			zu Beginn	am Ende		N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$NaNO_3$	Rohrzucker	5	n.	st. alk.	a	13,32	—	7,68	20,93	—	—	22,84	22,84
					b	12,76	—	7,53	20,37	—	—	22,76	22,76
						13,04	—	**7,61**	**20,65**	—	—	**22,80**	**22,80**
$NaNO_3$	Traubenzucker	10	n.	alk.	a	13,32	—	8,44	21,72	4,83	—	17,70	22,52
					b	12,76	—	8,37	21,16	—	—	—	—
						13,04	—	**7,40**	**21,44**	**4,83**	—	**17,70**	**22,52**
$NaNO_3$	Fruchtzucker	5	n.	schw. alk.	a	13,32	—	7,82	20,95	—	—	22,96	22,96
					b	12,76	—	7,46	20,39	—	—	22,62	22,62
						13,04	—	**7,64**	**20,67**	—	—	**22,79**	**22,79**
$NaNO_3$	Ca-Laktat	5	n.	schw. alk.	a	13,32	—	7,89	21,14	—	—	20,16	20,16
					b	12,76	—	7,76	20,58	—	—	19,70	19,70
						13,04	—	**7,82**	**20,86**	—	—	**19,93**	**19,93**
$Ca(NO_3)_2$	Mannit	5	n.	schw. alk.	a	10,70	—	8,13	18,73	—	—	15,46	15,46
					b	10,48	—	7,93	18,51	—	—	15,46	15,46
						10,59	—	**8,03**	**18,62**	—	—	**15,46**	**15,46**
$Ca(NO_3)_2$	Traubenzucker	5	n.	s. schw. alk.	a	10,70	—	8,24	18,91	—	—	20,16	20,16
					b	10,48	—	8,17	18,69	—	—	20,02	20,02
						10,59	—	**8,21**	**18,80**	—	—	**20,09**	**20,09**
$Ca(NO_3)_2$	Glyzerin	10	n.	z. st. alk.	a	10,70	—	7,68	18,31	—	—	19,32	19,32
					b	10,48	—	7,53	18,09	—	—	19,04	19,04
						10,59	—	**7,61**	**18,20**	—	—	**19,18**	**19,18**
$Ca(NO_3)_2$	Ca-Laktat	5	n.	s. schw. alk.	a	10,70	—	7,89	18,52	—	—	19,32	19,32
					b	10,48	—	7,76	18,30	—	—	18,76	18,76
						10,59	—	**7,82**	**18,41**	—	—	**19.04**	**19,04**
NH_4NO_3	Dextrin	5	n.	z. st. alk.	a	7,68	7,68	7,68	23,04	—	—	22,68	22,68
					b	7 50	7,50	7,68	22,68	—	—	22,06	22,06
						7,59	**7,59**	**7,68**	**22,86**	—	—	**22,37**	**22,37**
NH_4NO_3	Traubenzucker	10	n.	alk.	a	7,68	7,68	8,24	23,56	—	—	24,22	24,22
					b	7,50	7,50	8,17	23,20	—	—	23,38	23,38
						7,59	**7,59**	**8,20**	**23,38**	—	—	**23,80**	**23,80**

II. Assimilationsversuche mit Rohkulturen. Geimpft mit 10 Proz. Erde.

N als	C als	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft		
			zu Beginn	am Ende		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$(NH_4)_2SO_4$	Ca-Laktat	10	n.	z. st. alk.	a	19,20	7,89	27,02	3,92	21,50	25,42
					b	18,80	7,76	26,62	—	—	—
						19,00	**7,82**	**26,82**	**3,92**	**21,50**	**25,42**
$(NH_4)_2SO_4$	Glyzerin	10	n.	st. alk.	a	19,20	7,48	26,60	—	26,88	26,88
					b	18,80	7,33	26,20	—	26,88	26,88
						19,00	**7,40**	**26,40**	—	**26,88**	**26,88**
$(NH_4)_2SO_4$	Milchzucker	10	n.	s. schw. alk.	a	19,20	8,03	27,20	—	27,86	27,86
					b	18,80	7,97	26,80	—	27,50	27,50
						19,00	**8,00**	**27,00**	—	**27,68**	**27,68**

N als	C als	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft		
			zu Beginn	am Ende		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$(NH_4)_2SO_4$	Dextrin	10	n.	z. st. sauer	a	19,20	7,92	27,00	3,50	24,50	28,00
					b	18,80	7,68	26,60	—	—	—
						19,00	**7,80**	**26,80**	**3,50**	**24,50**	**28,00**
$(NH_4)_2CO_3$	Rohrzucker	6	alk.	z. st. sauer	a	5,46	7,80	13,19	—	18,34	18,34
					b	5,24	7,65	12,97	—	17,83	17,83
						5,35	**7,73**	**13,08**	—	**18,08**	**18,08**
$(NH_4)_2CO_3$	Dextrin	6	alk.	sauer	a	5,46	7,92	13,26	—	18,13	18,13
					b	5,24	7,69	13,04	—	17,99	17,99
						5,35	**7,80**	**13,15**	—	**18,06**	**18,06**
$(NH_4)_2CO_3$	Milchzucker	6	alk.	sauer	a	5,46	8,15	13,58	—	17,08	17,08
					b	5,24	8,09	13,36	—	17,01	17,01
						5,35	**8,12**	**13,47**	—	**17,04**	**17,04**
NH_4Cl	Rohrzucker + Glyzerin	8	alk.	schw. sauer	a	16,12	7,59	23,66	—	23,46	23,46
					b	16,12	7,50	23,66	—	22,97	22,97
						16,12	**7,54**	**23,66**	—	**23,22**	**23,22**
Ammonformiat	Traubenzucker	8	n.	z. st. alk.	a	20,37	8,36	28,63	1,22	27,13	28,35
					b	19,82	8,22	28,11	—	—	—
						20,09	**8,29**	**28,38**	**1,22**	**27,13**	**28,35**
Ammonacetat	Rohrzucker + Glyzerin	10	n.	st. alk.	a	15,70	7,89	23,47	0,56	23,78	24,34
					b	15,49	7,64	23,26	—	—	—
						15,59	**7,77**	**23,36**	**0,56**	**23,78**	**24,34**
Ammonbutyrat	Traubenzucker	6	n.	s. st. alk.	a	15,49	8,36	23,78	—	24,46	24,46
					b	15,35	8,22	23,64	—	24,15	24,15
						15,42	**8,29**	**23,71**	—	**24,30**	**24,30**
Ammonoxalat	Milchzucker	10	n.	s. st. alk.	a	14,70	8,15	22,82	6,16	—	—
					b	14,42	8,09	22,54	—	—	—
						14,56	**8,12**	**22,68**	**6,16**	—	—
Ammonsuccinat	Rohrzucker + Glyzerin	6	n.	z. st. sauer	a	18,69	7,59	26,23	—	26,82	26,82
					b	18,55	7,50	26,09	—	26,40	26,40
						18,62	**7,54**	**26,16**	—	**26,61**	**26,61**
Ammonlaktat	Glyzerin	6	n.	s. st. alk.	a	15,30	7,64	22,88	—	24,20	24,20
					b	15,16	7,52	22,74	—	22,96	22,96
						15,23	**7,58**	**22,81**	—	**23,58**	**23,58**
Ammonmalat	Dextrin	6	n.	schw. alk.	a	14,84	7,80	22,64	—	23,72	23,72
					b	14,70	7,80	22,50	—	23,02	23,02
						14,77	**7,80**	**22,57**	—	**23,37**	**23,37**
Ammontartrat	Glyzerin	6	n.	s. st. alk.	a	17,57	7,60	25,09	—	25,92	25,92
					b	17,57	7,45	25,09	—	25,72	25,72
						17,57	**7,52**	**25,09**	—	**25,82**	**25,82**
Ammoncitrat	Rohrzucker	6	n.	z. st. sauer	a	12,94	7,70	20,51	—	21,65	21,65
					b	12,66	7,45	20,23	—	21,37	21,37
						12,80	**7,57**	**20,37**	—	**21,51**	**21,51**
Ammoncitrat	Rohrzucker + Glyzerin	6	n.	s. st. alk.	a	12,94	7,59	20,49	—	21,15	21,15
					b	12,66	7,50	20,21	—	20,77	20,77
						12,80	**7,55**	**20,35**	—	**20,96**	**20,96**

III. Assimilationsversuche mit Rohkulturen. Geimpft mit 10 Proz. Erde.

N als	C als	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft			
			zu Beginn	am Ende		Amid-N mg	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg	Amid-N mg	NH_3 mg	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg
Formamid	Ca-Acetat	10	n.	alk.	a	19,60	7,57	27,13	—	4,90	16,22 1)	?
					b	19,18	7,49	26,71	—	4,76	15,26	?
						19,39	**7,53**	**26,92**	—	**4,83**	**15,74**	?
Acetamid	Glyzerin	10	n.	z. st. alk.	a	13,92	7,48	21,32	—	—	22,35	22,35
					b	13,65	7,33	21,05	—	—	21,56	21,56
						13,78	**7,40**	**21,18**	—	—	**21,95**	**21,95**
Formamid	Traubenzucker	10	n.	alk.	a	19,60	8,36	27,92	—	6,92	21,16	28,08
					b	19,18	8,29	27,50	—	—	—	—
						19,39	**8,32**	**27,71**	—	**6,92**	**21,16**	**28,08**
Harnstoff	Dextrin	10	n.	s. st. alk.	a	16,17	7,88	23,97	—	6,32	17,96	24,28
					b	15,61	7,71	23,41	—	—	—	—
						15,89	**7,79**	**23,69**	—	**6,32**	**17,96**	**24,28**
Harnstoff	Ca-Laktat	10	n.	s. st. alk.	a	16,17	8,01	24,11	—	4,34	17,64	21,98
					b	15,61	7,88	23,55	—	—	—	—
						15,89	**7,94**	**23,83**	—	**4,34**	**17,64**	**21,98**
Guanidinkarbonat	Ca-Laktat	8	n.	s. st. alk.	a	19,78	8,04	27,74	—	0,49	27,72	28,21
					b	19,46	7,88	27,42	—	—	—	—
						19,62	**7,96**	**27,58**	—	**0,49**	**27,72**	**28,21**
Harnsäure	Rohrzucker + Glyzerin	10	s. schw. sauer	s. st. sauer	a	18,69	7,70	26,26	—	—	27,28	27,28
					b	18,13	7,45	25,70	—	—	27,22	27,22
						18,41	**7,57**	**25,98**	—	—	**27,25**	**27,25**
Harnsäure	Mannit	6	s. schw. sauer	z. st. sauer	a	18,69	8,15	26,78	—	—	25,92	25,92
					b	18,13	8,03	26,22	—	—	25,15	25,15
						18,41	**8,09**	**26,50**	—	—	**25,53**	**25,53**
Hippursäure	Rohrzucker	6	schw. alk.	s. st. alk.	a	12,88	7,59	20,43	—	—	21,84	21,84
					b	12,53	7,50	20,08	—	—	21,28	21,28
						12,70	**7,55**	**20,25**	—	—	**21,56**	**21,56**
Hippursäure	Galaktose	6	schw. alk.	schw. alk.	a	12,88	7,44	20,26	—	—	21,14	21,14
					b	12,53	7,32	19,91	—	—	20,48	20,48
						12,70	**7,38**	**20,08**	—	—	**20,81**	**20,81**
Tyrosin	Milchzucker	8	n.	schw. alk.	a	19,67	8,15	27,77	—	0,84	24,88	25,72
					b	—	8,06	—	—	—	—	—
						19,67	**8,10**	**27,77**	—	**0,84**	**24,88**	**25,72**
Asparagin	Rohrzucker + Glyzerin	6	n.	sauer	a	18,83	7,70	26,40	—	—	26,95	26,95
					b	18,69	7,45	26,26	—	—	26,81	26,81
						18,76	**7,57**	**26,33**	—	—	**26,88**	**26,88**
Asparagin	Rohrzucker	6	n.	sauer	a	18,83	7,59	26,38	—	—	26,53	26,53
					b	18,69	7,50	26,24	—	—	25,96	25,96
						18,76	**7,55**	**26,36**	—	—	**26,29**	**26,29**
Asparaginsäure	Rohrzucker + Glyzerin	10	n.	s. st. alk.	a	10,64	7,70	18,21	Spur	Spur	?	18,27
					b	10,36	7,45	17,93	Spur	Spur	?	17,70
						10,50	**7,57**	**18,07**	**Spur**	**Spur**	?	**17,98**

---

1) Die abfiltrierte Pilzmasse enthielt die angegebene Menge „Eiweißstickstoff“.

IV. Assimilationsversuche mit Rohkulturen. Geimpft mit 5 Proz. Stalldünger.

N als	C als	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril				geimpft			
			zu Beginn	am Ende		N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$NaNO_3$	Rohrzucker	5	n.	s. schw. alk.	a	13,32	1,96	12.88	28,05	—	—	28,26	28,26
					b	12,76	1,96	12,66	27,49	—	—	27,54	27,54
						13,04	**1,96**	**12,77**	**27,77**	—	—	**27,90**	**27,90**
$NaNO_3$	Fruchtzucker	5	n.	alk.	a	15,02	1,96	12,62	29,47	—	—	30,66	30,66
					b	14,76	1,96	12,36	29,21	—	—	30,20	30,20
						14,89	**1,96**	**12,49**	**29,34**	—	—	**30,43**	**30,43**
$Ca(NO_3)_2$	Traubenzucker	5	n.	schw. alk.	a	10,70	1,96	13,43	26,06	—	—	26,60	26,60
					b	10,48	1,96	13,36	25,84	—	—	26,04	26,04
						10,59	**1,96**	**13,40**	**25,95**	—	—	**26,32**	**26,32**
$Ca(NO_3)_2$	Glyzerin	5	n.	s. schw. alk.	a	10,70	1,96	12,67	25,25	—	—	25,04	25,04
					b	10,48	1,96	12,52	25,03	—	—	24,80	24,80
						10,59	**1,96**	**12,59**	**25,14**	—	—	**24,92**	**24,92**
$(NH_4)_2SO_4$	Glyzerin	10	n.	alk.	a	—	21,26	12,67	33,85	—	—	33,74	33,74
					b	—	20,76	12,52	33,35	verloren gegangen			
						—	**21,01**	**12,59**	**33,60**	—	—	**33,74**	**33,74**
$(NH_4)_2SO_4$	Ca-Laktat	10	n.	schw. alk.	a	—	21,26	12,08	33,27	—	11,20	21,56	32,76
					b	—	20,76	11,95	32,77	—	—	—	—
						—	**21,01**	**12,01**	**33,02**	—	**11,20**	**21,56**	**32,76**

V. Assimilationsversuche mit Reinkulturen.

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril				geimpft			
				zu Beginn	am Ende		N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mg N	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$NaNO_3$	Rohrzucker	Bact. agreste	14	n.	s. st. alk.	a	18,60	—	1,75	20,26	—	—	20,77	20,77
						b	18,37	—	1,60	20,03	—	—	20,63	20,63
							18,48	—	**1,67**	**20,15**	—	—	**20,70**	**20,70**
$NaNO_3$	Fruchtzucker	Bact. fluorescens	22	n.	alk.	a	18,60	—	1,45	20,02	0,68	1,98	12,30	14,96
						b	18,37	—	1,40	19,79	—	—	—	—
							18,48	—	**1,42**	**19,90**	**0,68**	**1,98**	**12,30**	**14,96**
$NaNO_3$	Fruchtzucker	Penicillium glaucum	20	n.	st. alk.	a	13,32	—	1,45	14,76	3,71	2,38	9,22	15,02
						b	12,76	—	1,40	14,18	3,22	2,30	9,01	14,81
							13,04	—	**1,42**	**14,47**	**3,46**	**2,34**	**9,11**	**14,92**
$NaNO_3$	Calciumlaktat	Bact. pneumoniae zu Radiobacter	14	n.	n.	a	18,60	—	1,96	20,54	—	—	2,85	2,85
						b	18,37	—	1,83	20,31	—	—	2,70	2,70
							18,48	—	**1,89**	**20,37**	—	—	**2,77**	**2,77**
$Ca(NO_3)_2$	Mannit	Bact. radiobacter	18	n.	s. schw. alk.	a	17,69	—	2,12	19,80	—	—	15,44	15,44
						b	17,34	—	2,10	19,45	—	—	15,04	15,04
							17,51	—	**2,11**	**19,62**	—	—	**15,24**	**15,24**
$Ca(NO_3)_2$	Traubenzucker	Hermodendron cladosporioides (Fres.)	18	n.	alk.	a	17,69	—	2,32	19,97	—	—	17,55	17,55
						b	17,34	—	2,24	19,62	—	—	17,41	17,41
							17,51	—	**2,28**	**19,79**	—	—	**17,48**	**17,48**

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril				geimpft			
				zu Beginn	am Ende		N_2O_5 mgN	NH_3 mgN	Org. N mg	Ges.-N mg	N_2O_5 mgN	NH_3 mgN	Org. N mg	Ges.-N mg
$Ca(NO_2)_2$	Traubenzucker	Stamm 2	25	n.	schw. alk.	a	17,69	—	2,32	19,97	—	—	2,81	2,81
						b	17,34	—	2,24	19,62	—	—	2,52	2,52
							17,51	—	**2,28**	**19,79**	—	—	**2,66**	**2,66**
$Ca(NO_3)_2$	Glyzerin	Bact. fulvum	25	n.	z. st. alk.	a	17,69	—	1,55	19,17	—	—	2,85	2,85
						b	17,34	—	1,41	18,82	—	—	Infektion	
							17,51	—	**1,48**	**18,99**	—	—	**2,85**	**2,85**
$Ca(NO_3)_2$	Glyzerin	Bact. punctatum	20	n.	n.	a	17,69	—	1,55	19,17	—	—	3,49	3,49
						b	17,34	—	1,41	18,82	—	—	3,15	3,15
							17,51	—	**1,48**	**18,99**	—	—	**3,32**	**3,32**
$Ca(NO_3)_2$	Calciumlaktat	Bact. fluorescens	20	n.	schw. alk.	a	17,69	—	1,97	19,59	—	—	3,00	3,00
						b	17,34	—	1,83	19,24	—	—	2,95	2,95
							17,51	—	**1,90**	**19,41**	—	—	**2,98**	**2,98**
$Ca(NO_3)_2$	Calciumlaktat	Bact. radiobacter	20	n.	z. st. alk.	a	17,69	—	1,97	19,59	0,98	—	2,83	3,81
						b	17,34	—	1,83	19,34	—	—	—	—
							17,51	—	**1,90**	**19,41**	**0,98**	—	**2,83**	**3,81**
NH_4NO_3	Dextrin	Bact. chrysogloea	25	n.	schw. alk.	a	10,24	10,24	1,75	22,23	9,80	10,23	2,59	22,62
						b	10,08	10,08	1,75	21,91	—	—	—	—
							10,16	**10,16**	**1,75**	**22,07**	**9,80**	**10,23**	**2,59**	**22,62**
NH_4NO_3	Traubenzucker	Mucor racemosus	25	n.	schw. alk.	a	10,24	10,24	2,31	22,76	7,10	7,14	10,95	24,69
						b	10,08	10,08	2,25	22,44	6,40	6,46	10,45	23,81
							10,16	**10,16**	**2,28**	**22,60**	**6,75**	**6,80**	**10,70**	**24,25**
NH_4NO_3	Traubenzucker	Bac. Freudenreichii?	25	n.	schw. s.	a	10,24	10,24	2,31	22,76	11,04	10,44	3,04	24,52
						b	10,08	10,08	2,25	22,44	—	—	—	—
							10,16	**10,16**	**2,28**	**22,60**	**11,04**	**10,44**	**3,04**	**24,52**

VI. Assimilationsversuche mit Reinkulturen.

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft		
				zu Beginn	am Ende		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$(NH_4)_2SO_4$	Calciumlaktat	Bact. radiobacter	20	n.	schw. alk.	a	21,65	1,97	23,55	—	23,02	23,02
						b	21,15	1,83	23,05	—	22,61	22,61
							21,40	**1,90**	**23,30**	—	**22,81**	**22,81**
$(NH_4)_2SO_4$	Calciumlaktat	Penicillium luteum	20	n.	schw. alk.	a	21,65	1,97	23,55	—	23,03	23,03
						b	21,15	1,83	23,05	—	22,75	22,75
							21,40	**1,90**	**23,30**	—	**22,89**	**22,89**
$(NH_4)_2SO_4$	Glyzerin	Penicillium glaucum (Stamm A)	20	n.	z. st. s.	a	23,02	1,54	24,59	—	27,23	27,23
						b	22,61	1,40	24,08	—	25,80	25,80
							22,81	**1,47**	**24,29**	—	**26,51**	**26,51**
$(NH_4)_2SO_4$	Milchzucker	Penicillium glaucum (Stamm B)	20	n.	z. st. s.	a	23,02	1,75	24,77	—	22,75	22,75
						b	22,61	1,75	24,36	—	22,65	22,65
							22,81	**1,75**	**24,56**	—	**22,70**	**22,70**

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft		
				zu Beginn	am Ende		NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH_3 mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
$(NH_4)_2SO_4$	Dextrin	Bac. Freudenreichii	25	n.	—	a	23,02	1,64	24,65	—	23,86	23,86
						b	22,61	1,62	24,23	—	23,06	23,06
							22,81	**1,63**	**24,44**	—	**23,47**	**23,47**
$(NH_4)_2CO_3$	Rohrzucker	Rosahefe	18	alk.	schw. alk.	a	2,67[1]	1,75	4,34	—	10,78	10,78
						b	2,46	1,60	4,13	—	9,88	9,88
							2,56	**1,67**	**4,23**	—	**10,33**	**10,33**
$(NH_4)_2CO_3$	Dextrin	Bac. Freudenreichii Var.	18	alk.	schw. alk.	a	2,67	1,75	4,42	1,32	4,30	5,62
						b	2,46	1,75	4,21	—	—	—
							2,56	**1,75**	**4,31**	**1,32**	**4,30**	**5,62**
$(NH_4)_2CO_3$	Milchzucker	Bact. ochraceum	18	alk.	st. alk.	a	2,67	2,10	4,74	2,24	4,24	6,48
						b	2,46	2,04	4,53	—	—	—
							2,56	**2,07**	**4,63**	**2,24**	**4,24**	**6,48**
$(NH_4)_2CO_3$	Milchzucker	Bact. coli	18	alk.	alk.	a	2,67	2,10	4,74	2,22	8,34	10,56
						b	2,46	2,04	4,53	—	—	—
							2,56	**2,07**	**4,63**	**2,22**	**8,34**	**10,56**
NH_4Cl	Rohrzucker + Glyzerin	Mucor mucedo (Rhizopus nigricans)	14	n.	z. st. s.	a	20,30	1,54	21,79	—	21,85	21,85
						b	20,07	1,45	21,57	—	21,62	21,62
							20,18	**1,50**	**21,68**	—	**21,73**	**21,73**
Ammonformiat	Traubenzucker	Sporodinia grandis Link.	27	n.	schw. alk.	a	9,96	2,31	12,24	8,76	4,01	12,76
						b	9,92	2,25	12,20	—	—	—
							9,94	**2,28**	**12,22**	**8,76**	**4,01**	**12,76**
Ammonacetat	Rohrzucker + Glyzerin	Bac. pumilus	18	n.	schw. s.	a	22,18	1,54	23,67	—	23,12	23,12
						b	21,80	1,45	23,29	—	22,76	22,76
							21,99	**1,49**	**23,48**	—	**22,94**	**22,94**
Ammonacetat	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. ochraceum	14	n.	schw. s.	a	22,18	1,54	23,67	—	26,43	26,43
						b	21,80	1,45	23,29	—	25,82	25,82
							21,99	**1,49**	**23,48**	—	**26,12**	**26,12**
Ammonbutyrat	Traubenzucker	Septosporium bifurcum Fres.	18	n.	s. st. alk.	a	18,78	2,31	21,05	—	21,33	21,33
						b	18,40	2,24	20,67	—	20,85	20,85
							18,59	**2,27**	**20,86**	—	**21,09**	**21,09**
Ammonoxalat	Milchzucker	Bact. chrysogloea	27	n.	schw. alk.	a	16,98	2,10	19,05	15,48	3,46	18,94
						b	16,54	2,04	18,61	—	—	—
							16,76	**2,07**	**18,83**	**15,48**	**3,46**	**18,94**
Ammonsuccinat	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. fluorescens liquefaciens	14	n.	alk.	a	19,80	1,54	21,29	—	20,65	20,65
						b	19,58	1,45	21,07	—	20,42	20,42
							19,69	**1,49**	**21,18**	—	**20,53**	**20,53**
Ammonsuccinat	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. radiobacter — Bact. coli	18	n.	alk.	a	19,80	1,54	21,29	16,12	4,42	20,54
						b	19,58	1,45	21,07	—	—	—
							19,69	**1,49**	**21,18**	**16,12**	**4,42**	**20,54**
Ammonlaktat	Glyzerin	Bact. chrysogloea	27	n.	s. st. alk.	a	17,80	1,55	19,28	16,96	4,02	20,98
						b	17,12	1,41	18,60	—	—	—
							17,46	**1,48**	**18,94**	**16,96**	**4,02**	**20,98**

---

[1] Es waren 12,70—12,64 mg Stickstoff in Form von $(NH_4)_2CO_3$ zugesetzt worden. Hiervon waren nach 18 Tagen die angegebenen Mengen noch vorhanden.

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft		
				zu Beginn	am Ende		NH$_3$ mg N	Org. N mg	Ges.-N mg	NH$_3$ mg N	Org. N mg	Ges.-N mg
Ammonlaktat	Glyzerin	Bact. putidum	18	n.	s. st. alk.	a	17,80	1,55	19,28	—	20,48	20,48
						b	17,12	1,41	18,60	—	20,04	20,04
							17,46	**1,48**	**18,94**	—	**20,26**	**20,26**
Ammonlaktat	Glyzerin	Bact. radiobacter	18	n.	st. alk.	a	17,80	1,55	19,28	—	18,24	18,24
						b	17,12	1,41	18,60	—	18,24	18,24
							17,46	**1,48**	**18,94**	—	**18,24**	**18,24**
Ammonmalat	Dextrin	Bact. putidum (Stamm I)	26	n.	alk.	a	16,24	1,75	17,99	4,76	7,20	11,96
						b	15,68	1,75	17,43	—	—	—
							15,96	**1,75**	**17,71**	**4,76**	**7,20**	**11,96**
Ammonmalat	Dextrin	Bact. putidum (Stamm II)	26	n.	alk.	a	16,24	1,75	17,99	5,08	5,88	10,96
						b	15,68	1,75	17,43	—	—	—
							15,96	**1,75**	**17,71**	**5,08**	**5,88**	**10,96**
Ammontartrat	Glyzerin	Bact. radiobacter	18	n.	schw. alk.	a	13,58	1,55	15,05	—	13,83	13,83
						b	13,24	1,40	14,71	—	13,47	13,47
							13,41	**1,47**	**14,88**	—	**13,65**	**13,65**
Ammontartrat	Glyzerin	Bac. Freudenreichii Var.	27	n.	s.	a	13,58	1,55	15,05	8,12	7,70	15,82
						b	13,24	1,40	14,71	—	—	—
							13,41	**1,47**	**14,88**	**8,12**	**7,70**	**15,82**
Ammoncitrat	Rohrzucker	Bac. pumilus	27	n.	schw. alk.	a	10,96	1,65	12,43	9,42	3,43	12,85
						b	10,68	1,40	12,15	—	—	—
							10,82	**1,52**	**12,34**	**9,42**	**3,43**	**12,85**
Ammoncitrat	Rohrzucker	Bac. pumilus Var.	18	n.	st. alk.	a	10,96	1,65	12,43	—	13,44	13,44
						b	10,68	1,40	12,15	—	12,94	12,94
							10,82	**1,52**	**12,34**	—	**13,19**	**13,19**
Ammoncitrat	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. fluor. liquefaciens (Stamm A)	14	n.	s.	a	14,60	1,54	16,09	—	16,72	16,72
						b	14,32	1,45	15,81	—	15,92	15,92
							14,46	**1,49**	**15,95**	—	**16,32**	**16,32**
Ammoncitrat	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. fluor. liquefaciens (Stamm B)	14	n.	s.	a	14,60	1,54	16,09	—	16,58	16,58
						b	14,32	1,45	15,81	—	Infektion	
							14,46	**1,49**	**15,95**	—	**16,58**	**16,58**
Ammoncitrat	Rohrzucker + Glyzerin	Penicillium glaucum (Stamm A)	14	n.	schw. alk.	a	14,60	1,54	16,09	—	17,15	17,15
						b	14,32	1,45	15,81	—	17,00	17,00
							14,46	**1,49**	**15,95**	—	**17,07**	**17,07**
Ammoncitrat	Rohrzucker + Glyzerin	Penicillium glaucum (Stamm B)	14	n.	schw. alk.	a	14,60	1,54	16,09	—	16,92	16,92
						b	14,32	1,45	15,81	—	16,48	16,48
							14,46	**1,49**	**15,95**	—	**16,70**	**16,70**

VII. Assimilationsversuche mit Reinkulturen.

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft			
				zu Beginn	am Ende		Amid mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg	NH$_3$ mgN	Amid mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg
Formamid	Calciumacetat	Mucor racemosus	18	n.	z. st. alk.	a	19,91	1,76	21,63	—	—	23,65	23,65
						b	19,76	1,68	21,48	—	—	23,65	23,65
							19,83	**1,72**	**21,55**	—	—	**23,65**	**23,65**
Acetamid	Glyzerin	Bact. fluor. liquefaciens	18	n.	schw. alk.	a	20,86	1,55	22,33	—	—	22,88	22,88
						b	20,48	1,40	21,95	—	—	22,46	22,46
							20,67	**1,47**	**22,14**	—	—	**22,67**	**22,67**
Acetamid	Glyzerin	Bac. pumilus?	27	n.	s. st. alk.	a	20,86	1,55	22,33	—	—	14,64	14,64
						b	20,48	1,40	21,95	—	—	14,34	14,34
							20,67	**1,47**	**22,14**	—	—	**14,49**	**14,49**
Harnstoff	Dextrin	Bac. Freudenreichii Var. (Uebergangsform zu Bac. pum.)	18	schw. alk.	s. st. alk.	a	14,82	1,75	16,57	—	—	17,97	17,97
						b	—	1,75	—	—	—	17,27	17,27
							14,82	**1,75**	**16,57**	—	—	**17,62**	**17,62**
Harnstoff	Calciumlaktat	Bac. pumilus Var.	27	schw. alk.	s. st. alk.	a	14,82	1,96	16,72	11,16	—	4,86	16,02
						b	—	1,83	—	—	—	—	—
							14,82	**1,89**	**16,72**	**11,16**	—	**4,86**	**16,02**
Guanidinkarbonat	Calciumlaktat	Bact. putidum	27	n.	z. st. alk.	a	20,17	1,86	21,92	0,84	—	20,44	21,28
						b	20,02	1.63	21,76	—	—	—	—
							20,09	**1,75**	**21,84**	**0,84**	—	**20,44**	**21,28**
Guanidinkarbonat	Calciumlaktat	Streptothrix odorifera	27	n.	s. st. alk.	a	20,17	1,86	21,92	0,84	—	20,30	21,14
						b	20,02	1,63	21,76	—	—	—	—
							20,09	**1,75**	**21,84**	**0,84**	—	**20,30**	**21,14**
Guanidinkarbonat	Calciumlaktat	Ustilago longissima	27	n.	s. st. alk.	a	20,17	1,86	21,92	—	Spur	16,76	?
						b	20,02	1,63	21,76	—	Spur	15,98	?
							20,09	**1,75**	**21,84**	—	**Spur**	**16,37**	?
Harnsäure	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. pneumoniae zu Bact. aërogenes	27	n.	schw. alk.	a	19,59	1,54	21,08	—	Spur	?	22,15
						b	—	1,45	—	—	Spur	?	21,82
							19,59	**1,49**	**21,08**	—	Spur	?	**21,98**
Harnsäure	Mannit	Bact. radiobacter	24	n.	st. alk.	a	16,94	2,10	19,04	0,66	—	13,80	14,46
						b	16,66	2,10	18,76	—	—	—	—
							16,80	**2,10**	**18.90**	**0,66**	—	**13.80**	**14,46**
Harnsäure	Mannit	Penicillium glaucum	24	n.	s. st. alk.	a	16,94	2,10	19,04	1,66	—	15,96[1]	?
						b	16,66	2,10	18,76	1,62	—	15,26	?
							16,80	**2,10**	**18,90**	**1,64**	—	**15,61**	?
Hippursäure	Rohrzucker	Cordiceps militaris Linné	24	n.	st. alk.	a	15,00	1,65	16,52	—	—	16,96	16,96
						b	14,42	1,40	15,94	—	—	16,68	16,68
							14,71	**1,52**	**16,23**	—	—	**16,82**	**16,82**
Hippursäure	Galaktose	Bact. erythrogenes	24	n.	z. st. alk.	a	15,00	1,32	16,30	1,05	—	15,01	16,06
						b	14,42	1,28	15,72	—	—	—	—
							14,71	**1,30**	**16,01**	**1,05**	—	**15,01**	**16,06**
Hippursäure	Galaktose	Septosporium bifurcum Fres.	24	n.	st. alk.	a	15,00	1,32	16,30	—	—	16,02	16,02
						b	14,42	1,28	15,72	—	—	15,72	15,72
							14.71	**1,30**	**16.01**	—	—	**15,87**	**15,87**

---

[1] In der abfiltrierten Pilzsubstanz vorhandene Stickstoffmengen.

N als	C als	Species	Versuchsdauer	Reaktion		Parallele	steril			geimpft			
				zu Beginn	am Ende		Amid mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg	NH_3 mgN	Amid mg N	„Eiweiß“ mg N	Ges.-N mg
Leucin	Milchzucker	Bac. pumilus	27	n.	s. st. alk.	a	14,18	2,10	16,25	—	—	15,64	16,64
						b	14,04	2,04	16,11	—	—	15,30	15,30
							14,11	**2,07**	**16,18**	—	—	**15,47**	**15,47**
Leucin	Milchzucker	Bact. fluor. liquefaciens	27	n.	s. st. alk.	a	14,18	2,10	16,25	—	—	14,68	14,68
						b	14,04	2,04	16,11	—	—	14,34	14,34
							14,11	**2,07**	**16,18**	—	—	**14,51**	**14,51**
Tyrosin	Milchzucker	Mucor Mucedo	27	n.	schw. alk.	a	10,76	2,10	12,86	—	—	10,98 1)	12,64
						b	10,34	2,04	12,38	—	—	10,78	12,48
							10,55	**2,07**	**12,62**	—	—	**10,88**	**12,56**
Asparagin	Rohrzucker + Glyzerin	Bac. pumilus Var.	18	n.	n.	a	30,80	1,54	32,29	—	—	15,58	15,58
						b	30,10	1,45	31,59	—	—	15,24	15,24
							30,45	**1,49**	**31,94**	—	—	**15,41**	**15,41**
Asparagin	Rohrzucker + Glyzerin	Bac. pumilus Var.	18	n.	n.	a	30,80	1,54	32,29	—	—	15,92	15,92
						b	30,10	1,45	31,59	—	—	15,48	15,48
							30,45	**1,49**	**31,94**	—	—	**15,70**	**15,70**
Asparagin	Rohrzucker + Glyzerin	Thamnidium elegans Link	18	n.	z. st. alk.	a	30,80	1,54	32,29	—	?	16,98 1)	?
						b	30,10	1,45	31,59	—	?	15,84	?
							30,45	**1,49**	**31,94**	—	?	**16,41**	?
Asparagin	Rohrzucker	Torula-Hefe	18	n.	st. alk.	a	14,04	1,65	15,56	—	—	16,14	16,14
						b	13,62	1,40	15,14	—	—	15,36	15,36
							13,83	**1,52**	**15,35**	—	—	**15,75**	**15,75**
Asparagin	Rohrzucker	Bact. punctatum	27	n.	st. alk.	a	14,04	1,60	15,56	2,24	—	13,32	15,56
						b	13,62	1,45	15,14	—	—	—	—
							13,83	**1,52**	**15,35**	**2,24**	—	**13,32**	**15,56**
Asparaginsäure	Rohrzucker + Glyzerin	Bac. petasites	18			a	12,38	1,54	13,87	—	—	13,43	13,43
						b	11,96	1,40	13,45	—	—	13,29	13,29
							12,17	**1,47**	**13,66**	—	—	**13,36**	**13,36**
Asparaginsäure	Rohrzucker + Glyzerin	Bact. radiobacter	27			a	12,38	1,64	13,97	—	—	13,58	13,58
						b	11,96	1,50	13,55	—	—	13,08	13,08
							12,17	**1,57**	**13,76**	—	—	**13,33**	**13,33**

---

1) In der abfiltrierten Pilzsubstanz vorhandene Stickstoffmengen.

Nachdruck verboten.

Experimental studies on the agricultural-chemical signification of certain Bacteria.

[From the Hygienic Institute of the University of Helsingfors.
Director: Prof. Dr. Taavi Laitinen.]

By **Rich. W. Stigell.**

1. Introduction.

As the bacteriological science has made progress the relation of bacteria to vegetation has also come under closer examination. Besides the extensive and important investigations which relate to the phytophotogenical qualities of bacteria, those bacteria found in the soil have special significance as means of nourishment for vegetation, and their relation to the production of vegetation has attracted much attention.

The reason of this has been the great spreading of bacteria in the soil, and also the many important variations which have been noticed in the modes in which different bacteria act. The frequent appearance of bacteria everywhere in cultivated ground is universally known and easy to verify and has been demonstrated chiefly by Fraenkel, Miquel and Fülles by their determination of quantities, and by his examination of their quality, Löhnis has proved that the bacteria may be of many different kinds which are found at the same time, in one and the same specimen of soil.

By elective methods of cultivation he could distinguish in 1 gr. of soil 3 750 000 pepton-dividing, 50 000 urine-dividing, 50 000 denitrifying, 50 000 nitrifying, and 25 freely nitrogen-uniting.

Besides these there are found everywhere in the soil great multitudes of different sorts of bacteria; and some investigators such as Max Düggeli (10) and Hoffmann (25) explain that different kinds of seeds contain multitudes of bacteria worthy of notice. Consequently it is regarded as probable that vegetation of every possible variety comes in contact with bacteria.

But in what degree bacteria can operate upon the development of vegetation, depends of course, on the conditions of life of the bacteria, and their capacity for affecting vegetation. The precise quality of certain bacteria has been the subject of thorough examination and the presence or absence of bacteria has been considered very important in agricultural chemical investigations.

An explanation of the early observation — already mentioned by Plinius and Varro — that the cultivation of a species of legume increases the fertility of the soil, has been given us by Malpighi, Treviaranus, Woronin, Hellriegel, Beijerinck, Hiltner and others, thanks to their studies. By degrees Mulder, Boussingault, Schloesing, Müntz, Warrington, Heraeus and others have improved those investigations, by means of which Winogradsky, Omelianski and others were able, still later, to explain in detail the relation of bacteria to the important process of nitrification. The investigations which Goppelschröder, Meusel, and also Gayon and

Dupetit commence with regard to the question of denitrification, are likewise worthy of attention. Later on, several investigators observed that this capacity of denitrification was characteristic for several bacteria, and that owing previous views of this phenomenon investigators had been inclined to give it almost too great a significance [Maercker (45), Wagner (74)].

After certain specially important observations, it was discovered that different sorts of bacteria, stand in very different relationships to nitrogen — some nitrifying, others denitrifying. And therefore trials have been made for the direct purpose of examining the influence of bacteria on vegetation.

Stoklasa's (62) experiment with Brassica rapa oleifera deserves particular mention inasmuch as 40 days after the time of vegetation he noticed perceptible differences between the sterile and inoculated plants. On inoculation he used symbios: Bac. mycoides, Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. proteus vulgaris, Bac. subtilis, Bac. butyricus (Hueppe), Bac. megatherium, Bac. ureae, Bac. mesentericus vulgatus, Bact. coli commune. His statement that the vessel under observation, although protected by means of a glass lid, was perfectly sterile at the end of the experiment, and also, that the inoculation with the growth of the seeds should have brought about perceptible differences of quality, seem at all events to be singular.

Laurents (39) and also Franck (12) assert that inoculation with soil containing bacteria causes an increase in the crop (Hordeum and Tabacum, Polygonum). Duclaux also in his examination "Sur la germination dans un sol riche en moterices organiques, mais exempt de microbes" has observed that the germination of the seeds was abnormal in a sterile soil and quite as weak as in distilled water (9). Great attention attracted especially the experiments which were made with the so-called "Alinit pure culture". The question of the origin of "pure culture", also gives rise to differences of opinion. Stutzer (71) and Hartleb regard alinit-bacillus as being very nearly allied to Bac. myocoides, or Bac. megatherium (69). Frank (13) and others regard it as identical with Bac. terrigenus and Lauck with Bac. subtilis (38). The observation made by Krüger and Schneidewind may be regarded as the best solution of the question viz: that the talk about culture and still more of "pure culture", in such a preparation as alinit, discoses an ignorance of a bacteriological question which is worthy of note (37).

With the above-mentioned object numerous experiments were made, and several noteworthy investigators were for alinit, until they perceived it to be inefficacious, and rejected it. Experiments by which an examination has been made concerning the influence of certain bacteria may be mentioned here and two more, in which besides other bacteria, the above mentioned alinit bacteria were also used. Hiltner arranged an experiment with sterile and fertile soil; and for inoculation, besides alinit bacteria, he used a perfectly denitrifying Bac. b. and Bac. c., which reduces nitrate to nitrite (21). Taking the crops of the soil which was not inoculated as 100, the results can be tabulated thus:

	Alinit-Bac.	Bac. a.	Bac. b.	Bac. c.
In sterile soil	109,0	118,5	126,7	131,1
In unsterilized soil	100,7	117,2	105,0	140,7

Stoklasa has also experimented with Bac. subtilis and alinit-bacillus, which he inoculated in two kinds of soil, which had different humous contents. The results were as follows (61, 62):

In soil without humus.	corn (grain)	straw
Non inoculated	178,2	214,5
Bac. subtilis	180,2	237,0
Alinit-bacillus	180,9	245,0
In soil containing humus.		
Non inoculated	190,0	258,8
Bac. subtilis	193,5	259,3
Alinit-bacillus	265,7	252,4

In addition to the experiments with alinit several other experiments in oculation have been made (bosh of soil and seeds) with the object of improving the production of vegetation. But although the attempts in several cases, have given satisfactory results, they have not yet obtained any marked success in practice.

On the other hand there have been experiments which show that the operations of bacteria are not always advantageous. Although it is generally believed (chiefly in consequence of Pasteur's, Duclaux' and Fernbach's investigations), that bacteria cannot penetrate the cellulosa membrane of plants, several reasons have given rise to the contrary opinion. And Charrin regards it as possible, that Bac. pyocyaneus might be able, under certain circumstances, to penetrate into the plants (4). Russel's experiments point in the same direction with Bac. butyricus and Bac. pyocyaneus (53) and so also does Cornauth's experiment with Bact. coli and Bac. prodigiosus (7).

Even if such a penetration is impossible, it seems, that in some other manner, certain sorts of bacteria may be able to hinder the development of vegetation.

Laurent has inquired into the question, of normal, pure saprophytic, living organisms changing into parasites and the results of the experiment (in which he made use of Bact. coli commune, amongst others), made him think of employing serum-therapeutic for the use in the vegetable kingdom (39). Stoklasa also has by examination of withering of sugar-beets, become convinced that the cause of this is some ordinary bacteria of the soil, viz: Bac. myocoides, Bac. butyricus and Bact. vulgare. He has likewise, by the examination of the root-plague of sugar-beet, observed that beets contain great multitudes (300—800000) of bacteria which cause putrefaction; the presence has been proved of Bac. subtilis, Bac. liquefacius, Bac. mesentericus vulgatus, and Bac. mycoides (63).

Hiltner and Peters (23), and also Sigmund (59) presume that the called "fatique of soil" is caused by certain organisms found in the soil. Linhart still asserts that this is caused by certain bacteria viz: Bacillus mycoides, Bacillus fluorescens liquefaciens, Bacillus mesentericus vulgatus (41). Hiltner is of the opinion that a great multitude of bacteria employing pectin might cause putrefaction, especially in large legume seeds and that they might consequently prevent the seeds from developing (20).

Although with different bacteria, quite different possibilities have been noticed, and several bacteriological investigations have been carried out in order to make clear the different phenomena in vegetable production, the question of quality has been yet quite superficially treated. Although after Pasteur isolated "Vibrion peptique" and "Bacille du charbon" several qualitative determinations have been made, still bacteria-flora in the soil is in general relatively insufficiently known. The difficulties which arise in consequence of the numerous species of bacteria, and the complicated method of diagnosis are the causes of the delay in performing these investigations.

The investigations of Löhnis which have been earlier mentioned, gave a good idea of the numerous species of bacteria, and Gottheil's (18) methods of determination are the best proof of the difficulties which arise and tend to hinder accurate diagnosis of closely allied species.

In most cases investigators have been satisfied with qualitative determinations alone, and thus (generally in consequence of the result which has been arrived at by very primitive methods of determination), different opinions and statements have been arrived at.

In particular the favourable influence which has been noticed in nodule-bacteria of leguminose and nitrification-bacteria may have been the reason, why a general support was given to the assertion of Caron, that the fertility of the soil was closely dependent upon the number of bacteria found therein (3). Latterly, and principally owing to the influence of Conn and Löhnis (42), the question of quality has begun to have more weight through the bacteriological examinations.

Leaving leguminose nodule-bacteria and also nitrification-bacteria on one side, the freely-living bacteria in the soil and their efficacy in general, are beginning to be regarded as one of the many operating factors, of whose influence there are still many different opinions as regards both quality and extension.

As this extensive and complicated question, besides its scientific interest, is of such great and important economical significance, I should like, for my part, to illustrate it by the experiments of which I shall give an account in the following.

2. Significance of the experiments.

As has already been pointed out several investigations show that the bacteria-flora in the soil is with respect to both number and quality so diverse that it may be considered a fact, that the plants generally will come in contact with several bacteria. I have also referred to the fact that the mode of life of some species of bacteria as well as their possibility of influencing have been kept under careful examination; so that for instance the symbiotic nitrogen assimilation of the nodule bacteria, the nitrification, the denitrification and several phytopathogenic phenomena have been many-sidely illustrated. As the bacterial-flora occurring in the soil is not limited to the species treated in these studies, the relation of the bacteria to the plants is still in many respects dark and defectively treated. Besides that the qualitative relations of the bacteria living at liberty in the soil has been comparatively superficially examined, the properties of some particular, certain species of bacteria is even less known. Those few examinations, that have been made in this department and which have already been touched upon refer to some particular species of bacteria having some definite and specific influences on the development of the plants; thus some persons often very arbitrarily have begun to regard the presence of some special bacteria and their operations as an explanation for all sorts of phenomena both advantageous and disadvantageous in the vegetative production.

Having regard to these points of view and the systematical examinations in this department being any thing but numerous, I considered it necessary to arrange some experiments by means of which I should be able to watch the direct total action of some definite, certainly known bacteria on the development of the plants in general and as far as possible find out on what this presumed influence might depend.

As there was no difficulty in making observations by a series of experiments arranged in order to follow a double biological process of this kind — i. e. the development of the plants and the action of the bacteria — on several things at the same time and as it was on the other hand impossible to treat the question in all detail, I thought it necessary to determine more narrowly the significance of the experiments.

As some bacteria according to Hiltner (20) were able to disturb the germination of the seeds, as well as their development by fermenting the pectin, I of course observed the action of bacteria on the germination of the seeds. In consequence of Stoklasa's (63) and Lindhart's (41) assertions I made some observations regarding the rapidity of the growth of plants, simultaneously with those I made upon the withering of the same.

For the purpose of comparing the influence of bacteria on the development of the plants, I again determined the organic nitrogen assimilated to the plants and ascertained whether the bacteria were able to cause any malformations in the roots of the plants. As the explanations regarding the influence of bacteria are generally connected with nitrogen nutritive-matter I ascertained at the end of the experiments the ammonia, nitrites, nitrates, and organic nitrogen found in the vegetative ground; and by means of these determinations as well as by the one regarding the organic nitrogen assimilated to plants I made quantitative calculations regarding the variation of the total-nitrogen.

As my purpose was to find out the influence of bacteria in general upon the plants I of course used several species as experimental plants; especially since different plants according to Lepoutre (40) for instance are in a quite unequal degree exposed to the action of the bacteria.

Paying attention to all these matters the experiments in question became somewhat superficial. Nevertheless, considering the defective and contradictory results of the experiments made hitherto it cannot be regarded as useful to make thorough investigations inparticular aspects of the question before the presumed influence of certain bacteria has been found out by means of direct general experiments of these kinds.

How much the fermentation of pectin or cellulose, the various actions of bacteria, indol-, scathol- or other formations, ecto- and endoenzyms of several kinds influence the development of the plants, would be rather difficult to say; moreover it may be regarded as unnecessary until it has been proved that certain bacteria have some marked general action upon the development of the plants.

3. Selection of bacteria.

In selecting bacteria for my experiments I naturally kept in mind, that the species chosen should be as common as possible and at the same time should possess characteristics of as much scientific interest as possible.

I did not consider an investigation of the nitrifying bacteria as conformable to my purpose since their vital functions have already been so circumstantially investigated, and their favourable influence made plain independently. As moreover a large quantity of nitrate had been present they would under the circumstances have produced no effect or only an unnoticeable one.

I used the following bacteria species in my experiments.

Bacillus megatherium
Bacillus mesentericus fuscus,
Proteus vulgaris,
Bacillus pyocyaneus,
Bacillus subtilis,
Bact. coli commune,
Bacillus prodigiosus,
Bacillus butyricus also whole Symbiosa from all of these.

Concerning the spreading of the above mentioned bacteria species in the ground the following facts may be noted.

In his investigations of sand- and clay-ground, Wollny noticed the presence of Bac. subtilis and Bac. butyricus (76). Houston in his investigations of soil-bacteria found Bac. subtilis, Bac. mesentericus, Bac. prodigiosus, Bact. coli commune and proteus to be the most usual species (26). Pammel noticed Bac. prodigiosus and Bact. coli (52).

In his review of the above named Stoklasa's inoculation experiments Behrens mentions that those comparatively most diffused are: Proteus vulgaris, Bac. butyricus, Bac. megatherium, Bac. mesentericus vulgatus, Bact. coli commune (55).

As regards the various qualities of the above named bacteria the following views may be mentioned:

Although the general opinion is that Bac. megatherium cannot reduce, Klett on the other hand in his investigations on the reductive qualities of bacterias has obtained positive results (35). Anderlik has mentioned that Bac. megatherium is distinctly effective in changing nitrogen in evaporating form (1).

Bac. mesentericus is also according to Maasen (44) and Weissenberg (60) to be taken as a denitrifying one.

The Bac. pyocyaneus according to Maasen is particularly noticeable, for its reducing properties, for he remarks: "Die Umwandlung des Nitrates in Nitrit war nur bei wenigen Arten eine vollkommene, nur Bac. pyocyaneus reduzierte schon in 24 Stunden sämtlichen Salpeter."

Disregarding the positive results, which Fichtenholz and Warrington (75) got in examining the reductive ability of Bac. subtilis, it is now held that this bacteria is not among those that can reduce.

On the other hand many investigators, such as Cohen (5) and others have observed the Bacteria coli commune to be a distinctly active reducting agent. Besides others Wolff asserts that the reductive power of the Bact. coli commune does not stop at changing nitrates to nitrites, but can also accomplish perfect denitrification.

Charri's experiment with Bac. pyocyaneus and Russel's with Bac. pyocyaneus and Bac. butyricus have already been mentioned. In connexion with the alinit question Bac. subtilis and Bac. megatherium have been more particularly examined just as Bac. subtilis was in the above mentioned Heinze's and Stoklasa's experiments.

It may also be remarked that Max Düggeli (10) has examined the seed of Avena sativa, Hordeum vulgare, Secale sereale, Beta vulgaris and Trifolium pratense, and has observed in them amongst other bacteria the following species: Bacillus megatherium, Bacillus mesentericus (Flügge), Proteus vulgaris, Bact. coli commune. T. Hoffmann has also examined different kinds of wheat and oats and found the number of the germs in the former to be 74—94000 and in the latter 11 million per 1 gr. of seeds (25).

The bacteria used in my investigations were from the Hygienic Institute of Helsingfors University and were originally brought from Král's Institute in Prague.

All the bacteria used in the experiments belong to the II Familie Bacteriaceae; Bact. coli commune to the I „Gattung“ Bacterium and all the others to the 2:nd „Gattung“ Bacillus. All were to be developed by aerobic and anaerobic; exept Bact. coli commune all could dissolve gelatine. Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac. butyricus and Bac. mesentericus fuscus are with spore.

4. Arrangement of the experiments.

As opinions concerning the influence of bacteria were so different I was obliged in arranging the experiments to assume that the influence of the bacteria would be comparatively limited and small. In consequence of this I had to arrange the experiments so that the action of bacteria would be as efficient as possible. And since the purpose of the experiments was to observe the immediate effect of the bacteria, it was necessary to arrange that the vegetative ground should not be such that any indirect action of the bacteria would make any alteration in the results as regards the decomposition of organic materials and the solution of the mineral materials of plant nourishment etc. (54). As I had moreover to find out by what this presumed influence might be caused, it was necessary to know exactly the composition of the vegetative grounds at the beginning of the experiment. Bearing in mind the remark made by Migula (48), that in phytopathogenic investigations sorry to say the well developed methods used in medicinal studies have been neglected, I then arranged the experiments as follows.

Vegetative boxes were made from galvanized iron plates, 75 cm long, 55 cm broad and 12 cm high and 49,50 c. c. in volume. Several holes were made in the bottoms in order to permit ventilation. These boxes were filled with heated quartz-sand; the volume gravity being 1,44 in each box could be 60 kg of sand. The sand was then watered with a liquid of following composition.

$Ca(NO_3)_2$	4,0 gr.
$K(NO_3)$	1,0 „
$Mg(SO_4) + 7 H 20$	1,0 „
K_2HPO_4	1,0 „
Fe_2Cl_6	--
Water	992,5 „
	1000,0 gr.

At the beginning 6 litres of this liquid were put in every box and afterwards, at the beginning of the second II series another four litres so that each box thus contained in all 10 litres of this liquid or 166,6 c.c. per 1 kg of sand and corresponding:

	Per box	Per kg sand
$Ca(NO_3)_2$	40,0 g — 548,8 mg N	91,47 mg N
KNO_3	10,0 g — 387,0 mg N	64,50 mg N
	935,8 mg N	155,97 mg N

The inoculation was made in the following manner: In 100 c.c. of ordinary nourishing broth were inoculated the different bacteria which are described in detail elsewhere. When the culture was 48 hours old 300 c.c. of steril water were added. The liquid mixture was syringed evenly into every box. Inoculation was renewed every 5th day and in each box there was thus used 1000 c.c. of broth corresponding to 4 litres of the mixture; and the amount of the organic nitrogen thus present in the vegetative ground was per box 1,400 g or per kg of sand 23,3 mg.

When the vegetative ground was arranged in the manner already described, and the first inoculation made, I planted in every box 10 specimens of the following seeds:

- Avena sativa
- Hordeum vulgare
- Raphanus sativus
- Beta vulgaris
- Trifolium pratense
- Trifolium repens
- Pisum sativum
- Vicia sativa
- Phleum pratense
- Polygonum fagopyrum

The vegetative experiments were in two series. In the former series (I) I used 10 specimens of each sort of seed and planted them paying attention to the depth, tightness and position in the vegetative box as symmetrically as possible. In the latter (II) series I used 100 spcimens of each short of seed planted in the same way as in the preceeding series.

The vegetative boxes were in a large room, provided with 3 great windows. It was of course carefully arranged that the boxes and the plants, which were to be compared were placed as regards the light as symmetrically as possible and at certainly due position to the light.

Although it caused much difficulty to place several boxes exactly in the same manner, it was nevertheless possible to arrange them so that unavoidably trifling differences, could not influence the results. It may be observed, that even these differences could be compensated for by moving the boxes from one place to another, so that the demands required by such experiments as Morgen's investigations, were completely fulfilled (49). It may also be mentioned that all results have not been used; those were rejected in which the unevenness of light might possibly have caused some differences.

The different boxes of both series were inoculated in the manner already mentioned, and were moistened every day with distilled water in the same way and with the same amounts, which varied from 200 c.c. to 600 c.c. per box as seemed necessary.

The vegetative boxes being thus directly connected with air, the control boxes could not possibly be kept sterile. The isolation of such large boxes as these, would have been too difficult especially as inoculation was often renewed and as even the methods, which Stoklasa used in the above mentioned experiments have not been looked upon very favourably. I decided to do without isolation (55).

It is to be observed that the inoculation was efficient and that the comparisons were made both as to the variations from control and as to the variations of different bacteria with one another.

Such a vegetative ground as regards the bacteria could not be considered particularly good, though the investigations of Manfred and Serafini (46) showed, that bacteria are able to thrive even in quartz-sand.

The sterilization of the vegetative ground could not in these circumstances cause any of the physiological or chemical-physical alterations, which Schulze (56) mentions, since the arrangement of all the vegetative grounds was the same.

5. Observations on the action of the bacteria on the germination of the seeds.

After having arranged the vegetative experiments in the manner already described, I commenced to observe the possible effects which the various bacteria might produce. The observations were directed to the germination of the seeds, but the rapidity of the growth of plants as well as the withering of the plants was also carefully noticed. The possible influence of the bacteria on the roots of plants was observed macroscopically and partially even microscopically, and the organic nitrogen assimilated to the plants was also determined.

Observations on the action of the bacteria upon the germination of seeds were made simply by the method of recording separately the number of the seeds germinating and not germinating.

At the same time when the action of the bacteria on the germination of seeds was being observed, it was also observed, whether any differences appeared regarding the energy of germination. The results proved, however, that there was no difference between the several species of bacteria in this respect.

Bacillus megatherium. Bacillus megatherium seemed to be able to make a disturbance in the germination of some seeds. The diminution in the germinating power of Hordeum vulgare was about 5 %, of Avena sativa 3 %, of Raphanus sativus only 1 %. The results from Beta vulgaris and Trifolium pratense were the same as those from the control seeds. The difference in Trifolium repens went up to 8 %, whereas Pisum sativum and Vicia sativa showed the same results as the control seeds; but in Phleum pratense the difference increased to 16 % and it was almost the same with Polygonum Fagopyrum viz. 13 %.

Bacillus mesentericus fuscus. Bacillus mesentericus fuscus was not in general found to be so actively effective as Bacillus megatherium. In Hordeum vulgare the difference was 8,5 %, in Avena sativa only 1,5 %. Raphanus sativus, Beta vulgaris and Trifolium pratense gave the same results as their seeds kept for control. In Trifolium repens the difference was about 5 % while Pisum sativum appeared to show no change. The difference with Vicia sativa was 2,5 %. On Phleum pratense there was no influence at all to be observed, and in Polygonum Fagopyrum the difference was nearly 2 %.

Proteus vulgaris. The influence of Proteus vulgaris was on an average almost the same as that of Bacillus mesentericus, though the action on various species of seeds was different. On Hordeum vulgare the difference was only about 2 %, on Avena sativa on the contrary 8,5 %. Six species viz. Raphanus sativus, Beta vulgaris, Trifolium pratense, Trifolium repens, Pisum sativum, and Vicia sativa were found to show no changes. On Phleum pratense and Polygonum Fagopyrum the difference was about 8 %.

Bacillus pyocyaneus. Bacillus pyocyaneus on the whole was observed to act very efficiently, though even it was found to cause no changes as regards Beta vulgaris and Vicia sativa. Its greatest influence was on Polygonum Fagopyrum it being about 15 %, and next on Hordeum vulgare and Phleum pratense, on both of which it was about 11 %. The percentage in the case of Avena sativa and Raphanus sativus was about 7, and of Trifolium repens only 1.

Bacillus subtilis. Bacillus subtilis proved to have no effect upon any seeds.

Bacterium coli commune. Bact. coli communis affected only three species: viz. Avena sativa and Beta vulgaris, 2 % on both and, more efficiently, with Vicia sativa, where it was 10 %. All other experimental seeds did not in any way differ from the seeds kept for control.

Bacillus prodigiosus. Bacillus prodigiosus proved to have the greatest average influence of all. As for Bacillus pyocyaneus it neither affected Beta vulgaris nor Vicia sativa. The most efficient action was on Trifolium pratense and Polygonum Fagopyrum, on the former 13 % and on the latter 12 %. On Trifolium repens and Phleum pratense the effect was about 10 %; on Avena sativa 8 %, on Pisum sativum 7 %, on Hordeum vulgaris 6 %, and on Raphanus sativus only 1 %.

Bacillus butyricus. Bacillus butyricus acted only on Hordeum vulgare, the effect being a difference on about 8 %. As regarded all others it was without effect.

Symbios. With Symbios Trifolium pratense, Trifolium repens, Pisum sativum, and Vicia sativa remained identical with the control seeds. The action on Phleum pratense, showed a difference on 13 %, on Hordeum vulgare on 10 %, on Avena sativa on about 6 %, on Polygonum Fagopyrum on only 3 %; and it was the least on Raphanus sativus and Beta vulgaris being only 1 %.

The results in whole of these experiments in germinating are digested in the following table.

(Though the percentage of the germination of the control seeds was not always 100, yet their value in order to afford relief in the comparison, has been marked equal to 100 % and other numbers have been reduced corresponding to it. This is why there appears one decimal in the numbers of the table.)

(See Table X p. 737.)

According to this table — if we take an average of all the species of the seeds — the influenee of the different bacteria on the germination of seeds, is as follows:

Table X.

	Hordeum vulgare	Avena sativa	Raphanus sativus	Beta vulgaris	Trifolium pratense	Trifolium repens	Pisum sativum	Vicia sativa	Phleum pratense	Polygonum Fagopyrum
Not inoculated (Control)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Bac. megatherium	94,6	97,0	98,8	100,0	100,0	91,8	100,0	100,0	84,4	87,4
Bac. mesentericus fuscus	91,4	98,6	100,0	100,0	100,0	94,7	100,0	97,4	100,0	98,2
Proteus vulgaris	97,8	91,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	91,9	92,5
Bac. pyocyaneus	88,7	92,8	93,5	100,0	95,3	98,8	97,2	100,0	88,8	85,4
Bac. subtilis	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Bact. coli commune	100,0	97,7	100,0	97,8	100,0	100,0	100,0	89,7	100,0	100,0
Bac. prodigiosus	93,7	92,4	98,6	100,0	86,8	90,4	93,3	100,0	90,5	87,8
Bac. butyricus	98,2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Symbiosus	90,1	94,4	98,8	98,9	100,0	100,0	100,0	100,0	87,4	97,4

Not inoculated (Control)	100,0 %
Bac. megatherium	95,4 „
Bac. mesentericus fuscus	97,0 „
Proteus vulgaris	97,4 „
Bac. pyocyaneus	94,1 „
Bac. subtilis	100,0 „
Bact. coli commune	96,4 „
Bac. prodigiosus	93,4 „
Bac. butyricus	99,8 „
Symbiosus	96,7 „

The action of the various bacteria cannot of course be defined thoroughly by means of numbers. And though it is true that these experiments are supported by those described later on in the supplements, yet results of this kind are always some what uncertain. Yet we may regard it as a fact that among the bigger seeds there are always to be found some which as regards their germination are disturbed more easily under the influence of bacteria than in normal conditions.

1st Supplement. In addition to the results that have already been mentioned, I may take the opportunity of describing the results from some germinating experiments, which dit not originally belong to my plan of work but which I still considered necessary to be made.

In this series of experiments I used the same bacteria and the same seeds. These experiments were arranged as the ordinary germinating experiments. The different amounts of seeds (200) were put between blotting papers; control seeds of all species of seeds were moistened in a liquid, containing 50 % of sterile distilled water and 50 % of bouillon. The same number of seeds were then moistened in a liquid containing 50 % of water and 50 % of the 48 hours' bouillon-culture of the corresponding bacteria. In all I used 1000 (5 × 200) specimens of each sort of the control seeds and the same number of different bacteria and symbiosis that is to say 10000 specimens of each sort of the seeds and 100000 seeds in all. These experiments also prove that bacteria can cause disturbances in the germination of the seeds.

Again marking the germinating power of the control-seeds equal to 100 % the results appear thus:

Bacillus megatherium.

	The reduced values (Control = 100,0)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	96,45 %	2,64 %	— 7,5 %
Avena sativa	100,00 „	3,11 „	+ 4,0 „
Raphanus sativus	96,54 „	2,80 „	+ 6,5 „
Beta vulgaris	100,00 „	3,46 „	— 5,0 „
Pisum sativum	100,00 „	3,14 „	— 7,0 „
Vicia sativa	90,18 „	3,05 „	— 11,2 „
Trifolium pratense	100,00 „	2,70 „	— 13,0 „
Trifolium repens	100,00 „	3,12 „	— 15,0 „
Phleum pratense	88,90 „	2,99 „	+ 14,1 „
Polygonum Fagopyrum	91,53 „	3,17 „	— 6,5 „

Bacillus mesentericus fuscus.

	The reduced values (Control = 100,0)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	97,41 %	4,71 %	— 7,4 %
Avena sativa	98,50 „	5,30 „	+ 5,5 „
Raphanus sativus	100,00 „	2,78 „	— 8,0 „
Beta vulgaris	100,00 „	4,33 „	— 6,0 „
Pisum sativum	98,53 „	6,16 „	— 12,5 „
Vicia sativa	97,16 „	5,07 „	+ 11,8 „
Trifolium pratense	100,00 „	2,43 „	+ 8,0 „
Trifolium repens	93,40 „	4,71 „	— 16,4 „
Phleum pratense	100,00 „	3,96 „	— 15,0 „
Polygonum Fagopyrum	97,14 „	2,23 „	+ 12,9 „

Proteus vulgaris.

	The reduced values (Control = 100,0)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	98,63 %	3,41 %	— 5,6 %
Avena sativa	94,75 „	1,88 „	+ 4,2 „
Raphanus sativus	98,80 „	2,73 „	— 3,8 „
Beta vulgaris	100,00 „	3,10 „	— 4,0 „
Pisum sativum	100,00 „	2,84 „	+ 5,0 „
Vicia sativa	100,00 „	1,91 „	+ 6,0 „
Trifolium pratense	100,00 „	2,16 „	— 7,0 „
Trifolium repens	100,00 „	3,05 „	— 7,0 „
Phleum pratense	94,60 „	4,11 „	— 6,6 „
Polygonum Fagopyrum	94,86 „	3,86 „	— 12,8 „

Bacillus pyocyaneus.

	The reduced values (Control = 100,0)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	92,37 %	2,14 %	+ 7,6 %
Avena sativa	95,84 „	3,40 „	— 4,8 „
Raphanus sativus	95,53 „	1,98 „	+ 5,5 „
Beta vulgaris	98,50 „	2,32 „	— 13,5 „
Pisum sativum	93,72 „	3,15 „	— 7,3 „
Vicia sativa	95,18 „	2,77 „	+ 6,8 „
Trifolium pratense	98,24 „	3,07 „	— 14,2 „
Trifolium repens	95,00 „	2,91 „	— 6,0 „
Phleum pratense	91,75 „	3,34 „	+ 8,2 „
Polygonum Fagopyrum	90,55 „	2,71 „	— 11,5 „

Bacillus subtilis.

	The reduced values (Control = 100,0)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	100,00 %	2,41 %	+ 4,0 %
Avena sativa	100,00 „	3,01 „	+ 5,0 „
Raphanus sativus	100,00 „	1,94 „	+ 5,0 „
Beta vulgaris	100,00 „	2,06 „	+ 5,0 „
Pisum sativum	100,00 „	1,85 „	+ 3,0 „
Vicia sativa	100,00 „	2,91 „	+ 3,0 „
Trifolium pratense	100,00 „	3,10 „	— 7,0 „
Trifolium repens	100,00 „	3,12 „	+ 14,0 „
Phleum pratense	98,40 „	1,49 „	— 6,4 „
Polygonum Fagopyrum	100,00 „	1,74 „	+ 3,0 „

Bacterium coli commune.

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	98,80 %	2,44 %	+ 4,2 %
Avena sativa	100,00 „	1,13 „	— 3,3 „
Raphanus sativus	98,60 „	3,03 „	— 4,6 „
Beta vulgaris	98,60 „	2,18 „	+ 5,4 „
Pisum sativum	100,00 „	0,74 „	+ 3,0 „
Vicia sativa	100,00 „	1,21 „	— 4,0 „
Trifolium pratense	100,00 „	2,13 „	+ 3,0 „
Trifolium repens	98,40 „	2,06 „	— 12,6 „
Phleum pratense	100,00 „	1,17 „	— 3,0 „
Polygonum Fagopyrum	100,00 „	1,40 „	— 4,0 „

Bacillus prodigiosus.

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	96,70 %	4,40 %	+ 7,3 %
Avena sativa	96,24 „	4,14 „	— 5,2 „
Raphanus sativus	100,00 „	3,10 „	+ 4,0 „
Beta vulgaris	100,00 „	1,91 „	— 5,0 „
Pisum sativum	91,86 „	4,71 „	— 11,8 „
Vicia sativa	93,84 „	4,83 „	+ 6,2 „
Trifolium pratense	95,80 „	2,74 „	+ 6,8 „
Trifolium repens	96,80 „	4,84 „	— 14,8 „
Phleum pratense	95,00 „	3,09 „	+ 7,0 „
Polygonum Fagopyrum	100,00 „	0,90 „	— 4,0 „

Bacillus butyricus.

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	100,00 %	2,75 %	+ 5,0 %
Avena sativa	100,00 „	3,41 „	— 6,0 „
Raphanus sativus	98,45 „	4,17 „	— 6,5 „
Beta vulgaris	100,00 „	3,51 „	— 4,0 „
Pisum sativum	100,00 „	4,12 „	+ 6,0 „
Vicia sativa	100,00 „	2,83 „	+ 5,0 „
Trifolium pratense	97,40 „	4,44 „	— 7,4 „
Trifolium repens	100,00 „	3,06 „	— 4,0 „
Phleum pratense	98,15 „	4,74 „	— 13,8 „
Polygonum Fagopyrum	95,13 „	4,88 „	— 5,9 „

Symbiosus.

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the different portions (100) of seeds	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	95,10 %	4,61 %	+ 7,9 %
Avena sativa	97,40 „	3,42 „	+ 5,6 „
Raphanus sativus	96,20 „	2,14 „	— 8,2 „
Beta vulgaris	97,84 „	3,01 „	— 5,8 „
Pisum sativum	100,00 „	3,50 „	— 6,0 „
Vicia sativa	98,13 „	2,73 „	— 4,1 „
Trifolium pratense	100,00 „	3,79 „	— 5,0 „
Trifolium repens	97,80 „	4,33 „	+ 6,2 „
Phleum pratense	94,17 „	5,61 „	— 7,2 „
Polygonum Fagopyrum	98,60 „	3,94 „	+ 5,4 „

Taking the average results in the same manner the results from all seeds are:

Not inoculated (control)	100,0 %
Bac. megatherium	96,4 „
Bac. mesentericus	98,2 „
Proteus vulgaris	99,1 „
Bac. pyocyaneus	94,7 „
Bac. subtilis	100,0 „
Bact. coli commune	98,4 „
Bac. prodigiosus	96,6 „
Bac. butyricus	98,9 „
Symbiosus	97,5 „

From these experiments it is difficult to conclude from what the aforesaid disturbances in the germination of the seeds arise. It may possibly be occassioned as Hiltner thinks by pectin-fermentation. Partially it may be caused by the different amounts of nitrite, afterwards discovered to be present in the vegetative boxes. For in his examinations of the influence of nitrite on the plants, Stutzer has observed that the influence of nitrite on the germination of Trifolium pratense has been unfavourable (70). This of course does not affect the results, which have been described in the 1st supplement.

In connection with this kind of investigation there was no need to ascertain to what extent, Laurent's (39) and Vignal (73) explanation could be sustained, viz. that the Bact. coli commune and Bac. mesentericus vulg. have two varying effects, one of which is to produce a poison which contracts protoplasms and the other to produce a certain enzym which dissolves mittellamell-substances in an alcalions solution.

The disturbances in germination may also be caused by the bacteria irritating the change of grease into grease-acid.

6. Observations on the action of the bacteria on the rapidity of the growth of plants.

The observations on the action of the bacteria upon the rapidity of the growth of plants were made in the following way:

When 10 seeds per plant of some species had been grown in the manner already described in a vegetative box, their length was at once measured and the average taken. The measurement was then renewed every 5th day. At first it was my intention to give the notes regarding the variations in the rapidity of the growth at the intervals of the various measurements but as they seemed to me to be of no particular value, because the action of the different bacteria, either favourable or unfavourable appeared in the same proportion at the intervals of all the measurements. And in order to save space I considered it sufficient to give only the necessary information regarding the averages, which were determined as follows.

From the average of the dimensions obtained at the last measurement was subtracted the average of the previous measurement and the remainder was then divided by the number of the days between the two measurements. The value of the control plants was marked equal to 100 and the values taken from the lengths of those plants, which had been under the influence of the different bacteria, were reduced correspondingly.

Bacillus megatherium. Bac. megatherium proved to lower the rapidity of the growth of all plants. It acted most unfavourably on the plants of Pisum sativum, next on Avena sativa and Trifolium pratense.

The difference from the control-plants was somewhat less as regarded Hordeum vulgare and Vicia sativa and still less as regarded Raphanus sativus, Polygonum Fagopyrum, Trifolium repens, and Beta vulgaris. It hindered least the development of Phleum pratense, the growth of which was almost exactly the same as that of the corresponding control-plant.

The results with Bac. megatherium were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	71,11 %	7,41 %	— 11,17 %
Avena sativa	63,36 „	6,30 „	— 15,43 „
Raphanus sativus	81,36 „	4,47 „	+ 10,16 „
Beta vulgaris	91,80 „	5,16 „	— 8,70 „
Pisum sativum	57,02 „	8,31 „	— 12,31 „
Vicia sativa	71,19 „	4,72 „	— 10,37 „
Trifolium pratense	64,86 „	5,16 „	+ 9,48 „
Trifolium repens	91,80 „	6,73 „	+ 12,17 „
Phleum pratense	99,84 „	7,14 „	+ 13,45 „
Polygonum Fagopyrum	88,84 „	5,55 „	— 14,02 „

Bacilllus mesentericus fuscus. Bac. mesentericus also like Bac. megatherium almost without exception hindered the rapidity of the growth of plants. The greatest difference appeared in the plants of Hordeum vulgare, and next in the plants of Pisum sativum and Trifolium pratense.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	61,98 %	7,72 %	— 15,7 %
Avena sativa	91,92 „	5,73 „	+ 14,3 „
Raphanus sativus	105,00 „	4,91 „	+ 16,7 „
Beta vulgaris	82,66 „	6,42 „	+ 11,4 „
Pisum sativum	74,76 „	7,44 „	— 13,3 „
Vicia sativa	100,82 „	3,93 „	— 10,5 „
Trifolium pratense	77,94 „	4,56 „	+ 13,6 „
Trifolium repens	94,50 „	5,18 „	— 15,0 „
Phleum pratense	93,12 „	6,24 „	+ 13,3 „
Polygonum Fagopyrum	94,18 „	7,41 „	— 14,4 „

Proteus vulgaris. The general action of Proteus vulgaris was nearly the same as that of the preceeding. Yet it proved to influence favourably Raphanus sativus and Vicia sativa, the rapidness of the growth of both these being a little greater than that of the control. It hindered most the growth of Hordeum vulgare and next that of Pisum sativum and Trifolium pratense.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	87,53 %	4,15 %	— 8,4 %
Avena sativa	67,68 „	7,48 „	— 13,6 „
Raphanus sativus	110,88 „	4,72 „	+ 12,7 „
Beta vulgaris	105,84 „	6,43 „	+ 16,3 „
Pisum sativum	87,06 „	4,91 „	+ 14,4 „
Vicia sativa	81,99 „	5,65 „	— 9,9 „
Trifolium pratense	69,62 „	4,77 „	— 10,3 „
Trifolium repens	98,00 „	6,41 „	+ 12,1 „
Phleum pratense	93,03 „	5,17 „	— 14,6 „
Polygonum Fagopyrum	74,29 „	4,93 „	— 10,7 „

Bacillus pyocyaneus. This bacillus increased considerably the rapidity of the growth of Hordeum vulgare and Raphanus sativus. It also acted favourably though in a smaller degree on Vicia sativa and Trifolium pratense. On the other hand it has a most unfavourable influence on Pisum sativum lowering considerably its rapidity of growth. It also hindered the growth of Avena sativa, Phleum pratense, Trifolium repens, Polygonum Fagopyrum and Beta vulgaris.

The results were as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	134,29 %	7,31 %	— 10,6 %
Avena sativa	66,24 „	6,15 „	— 16,4 „
Raphanus sativus	136,44 „	4,23 „	— 12,5 „
Beta vulgaris	85,32 „	7,11 „	+ 17,7 „
Pisum sativum	41,82 „	5,34 „	— 15,4 „
Vicia sativa	118,61 „	4,91 „	— 11,3 „
Trifolium pratense	101,52 „	6,13 „	— 9,8 „
Trifolium repens	71,20 „	8,27 „	— 14,6 „
Phleum pratense	63,04 „	7,14 „	+ 16,7 „
Polygonum Fagopyrum	77,74 „	6,43 „	+ 11,5 „

Bacillus subtilis. Bac. subtilis had in general, except on Avena sativa, a rather favourable influence. Its best action was on Phleum pratense, next on Pisum sativum, Hordeum vulgare, Beta vulgaris, Trifolium pratense, and Vicia sativa. On the other species it acted less.

The results with Bac. subtilis were as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	138,97 %	4,71 %	+ 17,3 %
Avena sativa	96,48 „	6,14 „	+ 11,4 „
Raphanus sativus	100,44 „	8,47 „	+ 15,6 „
Beta vulgaris	136,62 „	6,23 „	— 9,8 „
Pisum sativum	141,00 „	4,91 „	— 10,14 „
Vicia sativa	122,58 „	5,16 „	+ 11,16 „
Trifolium pratense	124,08 „	3,45 „	+ 13,3 „
Trifolium repens	112,25 „	4,63 „	— 13,9 „
Phleum pratense	174,72 „	5,10 „	— 11‘7 „
Polygonum Fagopyrum	113,22 „	4,55 „	— 10,4 „

Bacterium coli commune. The influence of Bact. coli commune was on an average nearly as favourable as that of the preceeding bacillus, though it obstructed the growth of Avena sativa, Beta vulgaris, Pisum sativum and Trifolium repens. It increased most the rapidity of the growth of Raphanus sativus and Vicia sativa and next that of Trifolium pratense and Phleum pratense.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	106,62 %	4,42 %	— 10,4 %
Avena sativa	81,72 „	6,17 „	+ 8,6 „
Raphanus sativus	162,36 „	2,84 „	— 17,7 „
Beta vulgaris	82,62 „	3,14 „	+ 15,2 „
Pisum sativum	88,46 „	5,53 „	+ 11,4 „
Vicia sativa	155,25 „	6,47 „	+ 13,6 „
Trifolium pratense	129,72 „	8,31 „	— 12,1 „
Trifolium repens	83,80 „	5,17 „	— 12,4 „
Phleum pratense	127,92 „	6,41 „	— 14,5 „
Polygonum Fagopyrum	102,74 „	4,81 „	— 16,3 „

Bacillus prodigiosus. This bacillus acted almost without exception unfavourably on each species, but especially on Pisum sativum, Avena sativa, and Polygonum Fagopyrum.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	84,37 %	6,66 %	+ 13,3 %
Avena sativa	63,48 „	8,41 „	+ 11,4 „
Raphanus sativus	72,36 „	5,17 „	— 16,7 „
Beta vulgaris	106,38 „	6.14 „	+ 17,5 „
Pisum sativum	58,50 „	8,05 „	— 16,5 „
Vicia sativa	87,84 „	4,15 „	+ 8,6 „
Trifolium pratense	96,82 „	6,30 „	— 11,8 „
Trifolium repens	98,00 „	5,42 „	— 14,4 „
Phleum pratense	99,87 „	7,11 „	+ 9,1 „
Polygonum Fagopyrum	65,97 „	6,31 „	+ 10,4 „

Bacillus butyricus. Unfavourable also was the influence of Bac. butyricus. Nevertheless it increased the growth of Avena sativa. It did most harm to Raphanus sativus, Trifolium pratense and Trifolium repens. Other species were less unfavourably effected.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	86,58 %	3,65 %	+ 8,8 %
Avena sativa	114,48 „	4,54 „	+ 12,4 „
Raphanus sativus	67,40 „	6,48 „	+ 13,3 „
Beta vulgaris	77,22 „	6,83 „	+ 10,2 „
Pisum sativum	87,18 „	6,39 „	+ 9,4 „
Vicia sativa	90,99 „	5,67 „	— 16,0 „
Trifolium pratense	70,50 „	7,94 „	— 14,9 „
Trifolium repens	76,60 „	4,75 „	+ 10,2 „
Phleum pratense	92,48 „	5,49 „	— 9,8 „
Polygonum Fagopyrum	86,51 „	5,53 „	— 12,3 „

Symbiosis. Symbiosis also obstructed the growth of most of the species. Yet it proved to be very favourable to **Phleum pratense** increasing its rapidity of growth to twice that on the control-plant. In a lesser degree it also acted favourably on **Trifolium repens**, **Trifolium pratense** and **Vicia sativa**. All others were kept back under the influence of Symbiosis.

The results were in whole as follows:

	The reduced values (Control = 100)	Errors between the particular plants	
		Average	Maximal
Hordeum vulgare	90,30 %	6,18 %	— 17,0 %
Avena sativa	64,32 „	4,82 „	+ 14,7 „
Raphanus sativus	75,88 „	5,29 „	+ 13,3 „
Beta vulgaris	71,28 „	4,93 „	— 10,9 „
Pisum sativum	57,48 „	6,37 „	— 9,5 „
Vicia sativa	101,16 „	5,74 „	+ 15,2 „
Trifolium pratense	102,46 „	3,45 „	— 13,3 „
Trifolium repens	112,50 „	3,52 „	— 10,8 „
Phleum pratense	191,88 „	4,63 „	+ 12,9 „
Polygonum Fagopyrum	97,07 „	7,28 „	+ 12,1 „

On an average the effect on the rapidity of the growth of the plants kept under the influence of the different bacteria were as follows:

Not inoculated (Control) = 100,00
Bacillus megatherium = 78,08
Bacillus mesentericus fuscus = 87,69
Proteus vulgaris = 87,50
Bacillus pyocyaneus = 89,62
Bacillus subtilis = 126,04
Bacterium coli commune = 113,12
Bacillus prodigiosus = 83,35
Bacillus butyricus = 85,00
Symbiosus = 96,43

The variations which appear in the rapidity of the growth of the plants, can of course, be explained in many ways. Possibly they might be caused by the direct phyto-pathogenic faculties of the different bacteria or by their effects in changing the food-matter in vegetative grounds. As a proof that plants besides their normal nourishment, can be induced to take matters of other kinds we may mention the experiments of **Franz**, von **Porthers** and **Yamanouchi** on the capacity of plants for absorbing precipitating matter. Using **Phaseolus vulgaris** these investigators obtained positive results after 8 and even 4 days (14).

But as we commenced the first experimental series immediately after the first inoculation it was not likely that the influence of bacteria by changing the nitrogenic nourishing matter of the vegetative ground could have any considerable effect on the result.

7. Observations on the action of the bacteria on the withering of the plants.

The observations regarding the withering of the plants were made simply by recording the number of those plants which had remained unwithered, 50 days after the plants had been evidently observed on the surface of the vegetative ground. In the averages the value of the control-seeds has been, in order to make the comparison easier, marked = 100 and the other values reduced to correspond it.

Bacillus megatherium. The plants, which had been under the influence of Bacillus megatherium. had not in general preserved themselves so well as the control-plants A great difference appeared especially in the plants of Hordeum vulgare, Trifolium repens, and Raphanus sativus. A little worse were the results aslo of Avena sativa, Pisum sativum. The results of Trifolium pratense, Phleum pratense and Polygonum Fagopyrum were nearly the same as those of the corresponding control plants. The number of the withered plants was in Beta vulgaris and Vicia sativa even less than in their control-plants.

Bacillus mesentericus fuscus. The influence of Bacillus mesentericus fuscus did not deviate much from the control. Yet the number of the withered plants in Avena sativa, Beta vulgaris, Vicia sativa, Trifolium pratense and Phleum pratense was somewhat less than that in their controls; in the others again the number was almost the same or a little greater.

Proteus vulgaris. Proteus vulgaris appeared to cause the plants better react against the withering than the corresponding control-plants did. The withering proportions of Hordeum vulgare were almost the same as those of the control-plants. Most declined plants were found among the species of Avena sativa, Re. sat., and Pisum sativum.

Bacillus pyocyaneus. Bacillus pyocyaneus in general increased the withering especially among the plants of Avena sativa, Hordeum vulgare, Trifolium repens and Phleum pratense. A little less was the number of withered plants in Beta vulgaris and almost the same as in the control it was in Raphanus sativus, Pisum sativum and Trifolium pratense.

Bacillus subtilis. Under the influence of Bacillus subtilis several plants appeared to react better against the withering than the control-plants. Thus for instance among the species of Hordeum vulgare, Beta vulgaris, Vicia sativa, Trifolium pratense, Phleum pratense, and Polygonum Fagopyrum the number of the withered plants was less than among the control plants. In Trifolium repens the corresponding number was the same as in the control; in others again somewhat greater.

Bacterium coli commune. Bact. coli communis diminished the withering of Avena sativa, Beta vulgaris, Vicia sativa and Trifolium pratense. In all others the number of the withered plants was greater than in the control and especially in Phleum pratense.

Bacillus prodigiosus. In those plants of Vicia sativa, Trifolium pratense, Trifolium repens and Phleum pratense which had been under the influence of Bacillus prodigiosus, the number of the withered plants was less than in those of the control. But much more withered plants was to be found among the plants of Avena sativa. In other species the difference from the control-plants was less prominent.

Bacillus butyricus. Among the plants having been under the influence of this bacillus there appeared considerable differences from the control-plants in four species, viz. in Trifolium pratense, Trifolium repens, Polygonum Fagopyrum and Raphanus sativus. In the three former the number of the withered plants was less than in the controls; among the latter there were less withered plants than among the control-plants. In the other species the corresponding number was almost the same as in the controls.

Symbiosus. Symbiosus acted advantageously on Vicia sativa, Trifolium pratense and Phleum pratense. The other species did not differ much from the control-plants.

The observations regarding the withering of the plants are shown entirely in the following table. The figures give account of the number of the plants, which had remained unwithered.

	Hordeum vulgare	Avena sativa	Raph. sativus	Beta vulgaris	Pisum sativ.	Vicia sativa	Trifol. pratense	Trifol. repens	Phleum prat.	Polyg. Fagopyr.
Not inoculated (Control)	85	90	84	82	97	80	71	76	65	78
Bacillus megatherium	49	77	63	94	92	88	68	54	62	76
Bacillus mesentericus fuscus	79	97	49	86	95	89	81	76	81	74
Proteus vulgaris	86	83	68	92	84	92	79	85	89	86
Bacillus pyocyaneus	34	30	86	90	98	76	69	49	43	61
Bacillus subtilis	88	81	82	97	79	96	83	77	84	88
Bacterium coli commune	73	100	79	91	86	90	74	71	35	68
Bacillus prodigiosus	83	59	73	84	92	89	92	86	70	71
Bacillus butyricus	86	93	71	82	93	82	81	88	62	85
Symbiosus	81	93	87	88	95	94	84	74	78	73

If we now again mark the value of the control-plants = 100 and reduce the others to correspond it, the averages of the plants remained unwithered among the control-plants and those having been under the influence of the different bacteria were according to the preceeding tables, as follows (original values in parenthesis):

Not inoculated (Control)	(80,8)	100,0 %	Bacillus subtilis	(85,5)	102,6 %
Bacillus megatherium	(72,3)	86,8 „	Bact. coli commune	(76,7)	92,0 „
Bacillus mesentericus fuscus	(80,7)	96,8 „	Bacillus prodigiosus	(79,9)	95,9 „
Proteus vulgaris	(84,4)	101,3 „	Bacillus butyricus	(82,3)	98,8 „
Bacillus pyocyaneus	(63,6)	76,3 „	Symbiosus	(84,7)	101,6 „

2nd Supplement. In this connection I will describe some results regarding the withering of the plants, from that series (a) of experiments with which I observed the rapidity of the growth of the plants. If we use the same marks the following table will show the number of those plants that had preserved themselves from withering for all the time used for the observations.

According to the notes given in the preceeding table the averages of all the plants were as follow:

Non inoculated (Control)	91 %	Bac. subtilis	98 %
Bac. megatherium	88 „	Bac. coli commune	95 „
„ mesentericus fuscus	93 „	„ prodigiosus	91 „
Proteus vulgaris	90 „	„ butyricus	97 „
Bac. pyocyaneus	80 „	„ Symbiosus	95 „

	Hordeum vulgare	Avena sativa	Raphanus raphanistrum	Beta vulgaris	Trifolium pratense	Trifolium repens	Pisum sativum	Vicia sativa	Phleum pratense	Polygonum Fagopyrum
Not inoculated (Control)	10	9	7	10	10	10	10	7	8	10
Bacillus megatherium	9	7	10	9	10	7	10	9	8	9
Bacillus mesentericus fuscus	10	9	9	9	10	7	10	10	9	10
Proteus vulgaris	7	9	10	9	9	8	10	10	8	10
Bacillus pyocyaneus	8	10	7	10	8	8	10	10	8	9
Bacillus subtilis	10	9	10	10	10	9	10	10	10	10
Bacterium coli commune	9	10	10	10	10	9	10	8	9	10
Bacillus prodigiosus	8	8	9	10	9	10	10	10	8	9
Bacillus butyricus	10	9	10	10	9	10	10	10	9	10
Symbiosus	10	8	9	9	10	10	10	10	9	10

As the observations on the withering of the plants were made in the latter experimental series, it was natural that the changes in the vegetative ground hat still greater influence on the withering relations than on the germination and growth.

Because it becomes further on in the introduced comparisons in the total bacterian influence apparent in what proportion the results of the germination of the seeds, the growing rapidness of the plants and their withering are to the alterations in the nitrogenic food-matter of the vegetative ground I shall not speak of it nearer here.

8. Macroscopic and microscopic examination of the plants.

The macroscopic and microscopic examination of the roots of the plants was performed always when all the species of the plants had been abolished.

As the observations on the rapidity of the growth of the plants and on the withering of the plants had not given any considerable differences, it was neither probable that the bacteria used for the experimentation should have caused any great disturbances in the development of the plants. As some of the corresponding bacteria had in general fastened on to the roots of the plants, it did not afford any difficulty to remove a bacteria in question from the roots to a drop of water and to make thus a stain preparation.

But because Bacillus subtilis and Bacillus butyricus might according to Stoklasa damage Beta vulgaris especially, I tried to observe as far as possible, whether there could be seen any differences between the control plants and those plants of Beta vulgaris which had been under the influence of these bacteria. The number of the bacteria fastened on the roots did not nevertheless seem to be greater in Beta vulgaris than in other plants. Nor did Bacillus subtilis and Bacillus butyricus prove to be able to fasten on the roots in a larger degree than the other bacteria, rather on the contrary.

On account of the assertions of the above mentioned Charrin and Russel I made some general experiments in order to find out whether Bacillus pyocyaneus or Bacillus butyricus could have penetrated into the plants. These experiments were made in the following way: After having washed carefully the roots under observation in distilled water, I cut from them small pieces which I immersed in mercuric chloride solution $^2/_{1000}$. Then I put some of the pieces in tubes of bouillon some in tubes of gelatin. Then I crushed the pieces in the tubes with a sterilized glass rod and placed them in thermostate The tubes used for the experiments remained, however, each sterile and so Bacillus pyocyaneus and Bacillus butyricus were not to be found in any part of the root.

As no particular informalities as has already been mentioned were to be observed in the roots of the plants, I did not pay any further attention to these things.

9. Determination of the organic nitrogen assimilated to the plants.

As the plants and their roots had been taken away from each vegetative box and examined, they were put into a special glass-vessel containing concentrated sulphuric acid.

The determinations of the nitrogen assimilated to the plants were made so that sulphuric acid and the plants from each vessel were boiled till they formed a homogenous mass. By means of sulphuric acid each liquid was made equal to 500 c. c. From this amount of liquid where taken two portions of 50 c. c. each and the nitrogen in them was determined according to Kjeldahl in the following manner: To this portion of 50 c. c. was added 25 g of sulphate of sodium and a drop of mercury, the mixture was boiled, cooled, weakened by the same amount of water, and after some zinc had beed added it was kept standing for an hour. Then it was alkalised with natrium-hydrate and distilled in $^1/_{10}$ N. sulphuric acid, which was then titrated $^1/_{10}$ N. alcalic.

In the determinations made after the method just described, the amount of the organic nitrogen assimilated to the control-plants and those having been under the influence of the different bacteria was as is shown below.

As the analytical results in all the further determinations regarding the examination of the vegetative ground are given pro 1 kg of soil, I will give an account of these results also reckoned pro 1 kg of soil.

	I	II	Average
Not inoculated (Control)	19,08 mg	19,13 mg	19,11 mg
Bacillus megatherium	18,44 „	18,50 „	18,47 „
Bacillus mesentericus fuscus	17,88 „	17,96 „	17,92 „
Proteus vulgaris	17,35 „	17,41 „	17,38 „
Bacillus pyocyaneus	16,21 „	15,97 „	16,09 „
Bacillus subtilis	19,46 „	19,70 „	19,58 „
Bact. coli commune	18,12 „	17,94 „	18,03 „
Bacillus prodigiosus	18,36 „	18,25 „	18,31 „
Bacillus butyricus	17,94 „	18,10 „	18,02 „
Symbios	18,05 „	18,13 „	18,09 „

As the results in those quantitative calculations by means of which the combined nitrogen has been determined, are given in percents from the original combined nitrogen, it will already in this connection perform the same values so that they correspond the amount of the original combined nitrogen in percents. The values are as follows:

Not inoculated (Control)	9,77 %	Bacillus subtilis	10,01 %
Bacillus megatherium	9,44 „	Bact. coli commune	9,21 „
Bacillus mesentericus fuscus	9,16 „	Bacillus prodigiosus	9,36 „
Proteus vulgaris	8,88 „	Bacillus butyricus	9,21 „
Bacillus pyocyaneus	8,22 „	Symbiosus	9,24 „

10. Qualitative bacteriological examination of the vegetative ground.

The qualitative bacteriological analysis are limited exclusively so that I examined in what degree each bacteria had maintained and kept its predomination in the respective vegetative box. As the boxes were not in any way protected against the infection of alien bacteria, it was naturally not to be hoped that the bacteria could for such a long time be preserved as pure culture ones. Nevertheless we were easily able to observe that in all the boxes the respective bacteria were almost entirely predominant as an exemplar that the bacteria generally had preserved their characteristic quality, let it be mentioned that in the agarculture obtained from the Bac. pyocyaneus box, its ordinary colour formation was clearly observed.

The sand in the control box naturally did not remain pure. It is especially to be noticed, that the bacterium, which appeared in it was so predominating, that it seemed to be a perfect pure culture. In the inoculative box where the pure cultured had contaminated, the same bacteria had also accomplished the contamination, which was to be observed in the control box. May it also be mentioned, that during the vegetative experiment, we made observations and determinations about the development of each bacteria in the soil and one could from them observe, that the inoculation had been sufficiently effective.

11. Quantitative bacteriological examinations.

From the method of arranging the experiments follows that the quantitative part of the vegetative principles in the bacteriological examinations, became almost unnecessary.

However 7 made during the experiments some quantitative determinations the number of colons developed on the agarit, changed from 200 000—1 600 000 per 1 gr. of soil. Naturally the results were always dependent upon the time, which had past from the last inoculation. The results showed also that the amount of germs in general rose during the second and third day after the inoculation. In most cases it was at its highest on the second day after the inoculation after which it again began to go down.

I also tried with a few experiments to see to which extent the proximity of different vegetables or better the proximity of the corresponding roots, would have effect on the number of bacteria. The results were however so changeable, that on their account no differences worth mentioning could be observed between the different plants. However it appeared, that in proximity of the plants, the number of bacteria would be less than if they were farther away.

Any qualitative or quantitative regulation of the microflora in the vegetative ground [Hiltner and Störmer (24)] or in the rhizophors of the plants, of which Hiltner (22) mentions could not naturally under these circumstances be distinguished.

12. Analytical methods in the chemical examination of the vegetative ground.

When the above observation of the vegetative experiments were completed and all the plants with their roots were destroyed, and qualitative as well as quantitative bacterial inspections were performed, then the chemical analysis were begun which were intended to disclose, what changes certain bacteria had caused in the nitrogenous matter in the corresponding vegetative grounds. For this purpose were determined in every vegetative box of sand the quantities of:

Ammonium
Nitrites
Nitrates and
Organic nitrogen.

The proofs for analysis were taken 100 days after the first inoculation and it was conducted so that the sand in each box was mixed as well as possible. From this were taken 10 kg, which was still better mixed and after this, the necessary portions for the different determinations were taken from it ammonium determinations were made as follows:

In a pot that contained 100 gr. of sand was poured 500 c.c. distilled water and to it were added 5 gr. of MgO. This was distilled in 20 c.c. of $^1/_{10}$ N. sulphuric acid and it were titrated with $^1/_{10}$ N. sodium hydroxyd.

By this method the values to be shown hereafter were obtained for the different vegetative boxes.

Certain determinations of Schloesings methods were also made but the results had greater differences and the values were in general smaller.

The nitrite determinations were made as follows:

For the determinations 200 gr. of sand were used in which was poured 1000 c.c. distilled water. Of this solution 500 c.c. was poured in glass cylinders and titrated with $^1/_{10}$ N. chameleon solution (72).

The titration was always conducted at the same time as all the ten proofs, in order that the changes of colour could be compared and then to make the titrations alike.

For both the different series were used sand solution made from different sand-portions.

The nitrate determinations were done according to the "zinc-iron" method as follows:

100 gr. sand was added to 500 c.c. of distilled water; to this 100 c.c. of spirit and 5 gr. of zinc-iron powder. The bone-carbon proved to be unnecessary. After 5 hours the hydrogen development stopped; to this was added 50 c.c. of sodium hydrate (B e 30) and this was distilled at a heat, in 50 c.c. of $^1/_{10}$ N. sulphuric acid and titrated with $^1/_{10}$ N. sodium hydrate.

Of the values of nitrates obtained in this manner the corresponding values of nitrites were diminished.

The organic nitrogen was determined according to the method of Kjeldahl-Dyer (34).

50 gr. of sand was added to 100 c.c. of concentrated sulphuric acid, 10 gr. of potassium sulphate and a drop of mercury. This mixture was cooked for a necessary time, and cooled, and zinc was added to it. It

was modified with potassium hydroxid and distilled in 20 c. c. $^1/_{10}$ N. sulphuric acid.

From the values which were produced by this way, the corresponding ammonia numbers were diminished.

The quantitative changes of the total nitrogen were calculated so, that the values, which were found at the and of the experimentation as ammonium, nitrites, nitrates and organic nitrogen and as the nitrogen assimilated by the plants were added together, and from this nitrogen were taken the values of nitrogen which was put in every vegetative box in the beginning and during the experimentation.

13. Determination of ammoniac.

The way the before explained determinations of execution pointed that after the proofs in the different vegetative boxes were found the following amounts of ammonia.

	N as ammoniac per 1 kg sand		
	I	II	Average
Not inoculated (control)	13,1 mg	14,1 mg	13,6 mg
Bac. megatherium	12,8 „	14,8 „	13,8 „
Bac. mesentericus fuscus	10,4 „ [1]	11,0 „ [1]	10,7 „
Proteus vulgaris	12,7 „	13,3 „	13,0 „
Bac. pyocyaneus	14,1 „	12,5 „	13,3 „
Bac. subtilis	23,5 „	19,0 „	21,2 „
Bact. coli commune	5,0 „	2,0 „	3,5 „
Bac. prodigiosus	8,7 „	8,9 „	6,3 „
Bac. butyricus	16,1 „	12,1 „	14,0 „
Symbios	26,9 „	23,1 „	25,0 „

In the different vegetative boxes the values of ammonia correspond in percentage to the original total nitrogen following numbers.

	N as ammoniac per cent to the original total nitrogen	Difference from control
Not inoculated (control)	6,98 %	0,0 %
Bac. megatherium	7,01 „	+ 4,30 „
Bac. mesentericus fuscus	5,46 „	— 21,78 „
Proteus vularis f.	6,65 „	— 4,73 „
Bac. pyocyaneus	6,80 „	— 2,58 „
Bac. subtilis	10,85 „	+ 55,46 „
Bact. coli commune	1,79 „	— 74,37 „
Bac. prodigiosus	3,23 „	— 53,74 „
Bac. butyricus	7,16 „	+ 2,58 „
Symbios	12,80 „	+ 83,40 „

As in the vegetative ground were not found in the beginning of the proofs any ammonium, these values are to be considered as direct additions. Though the ammonia portions are under the influence of many bacteria in the vegetative ground, they are of the same value as those which were received from the control box. There are even great exceptions to be observed. The highest number was in the box of Symbios and after this in the sand under the influence of Bac. subtilis. In the Bact. coli commune-box the ammonia portion was considerably smaller than in the others, and even in the Bac. prodigiosus-box it was only a half of that, which appeared in the control and in many other boxes.

---

[1] Average from two different determinations.

It is very difficult to decide in what degree during the whole time of the experiments the quantity of ammonia formed and disappeared can be proportional to these values.

As the ammonium formation is not considered like the nitrate formation to be due to some sorts only but common to many kinds of bacteria, there are nothing particular to be noted regarding the results. In the experiments that Marchall (47) performed for the different determinations of ammonia formation, he noticed, that the solution which contained 1,365 g of organic nitrogen m. m. Bac. subtilis had changed itself from this quantity to ammonia 23 %, Bac. mesentericus vulg. 27 %, and Proteus vulgaris 36 %.

In comparison to these results, the above mentioned values were thus in general smaller.

14. Determinations of nitrites.

From the different vegetative boxes, the following values were obtained for the nitrites.

	N as nitrite per 1 kg sand		
	I	II	Average
Not inoculated (control)	5,08 mg	5,32 mg	5,20 mg
Bac. megatherium	6,67 „	5,93 „	6,30 „
Bac. mesentericus fuscus	7,12 „	7,16 „	7,14 „
Proteus vulgaris	7,45 „	7,63 „	7,54 „
Bac. pyocyaneus	3,75 „	3,79 „	3,77 „
Bac. subtilis	2,57 „	3,23 „	2,90 „
Bact. coli commune	8,50 „	8,98 „	8,74 „
Bac. prodigiosus	12,94 „	13,10 „	13,02 „
Bac. butyricus	4,03 „	4,91 „	4,47 „
Symbios	8,72 „	8,12 „	8,42 „

Regarding the original nitrogen the above mentioned numbers are in per cent equal to the following values.

	N as nitrite in per cent to the original total nitrogen	Difference from control
Not inoculated (control)	2,66 %	0,0 %
Bac. megatherium	3,22 „	+ 21,05 „
Bac. mesentericus fuscus	3,65 „	+ 37,21 „
Proteus vulgaris	3,85 „	+ 44,73 „
Bac. pyocyaneus	3,96 „	+ 48,87 „
Bac. subtilis	1,48 „	— 44,36 „
Bact. coli commune	4,46 „	+ 67,66 „
Bac. prodigiosus	6,65 „	+ 149,78 „
Bac. butyricus	2,29 „	— 13,91 „
Symbios	4,30 „	+ 61,65 „

As the calcium and potassium nitrates that were used to the nutrient solution were free from nitrites, which circumstance was later on confirmed, these values of nitrite are also considered to be as direct additions. The occurrence of nitrite can be explained only by means of denitrification. Like the ammonia formation so also the denitrification or at least the nitrite formation has been noticed to be comparatively common. Maassen (44) for instance has noticed in his investigations on 109 species of bacteria that 85 species form nitrites. Frankland mentioned during his experiments that of 32 species of bacteria 16 to 17 are reducing agents and Warington noticed that out of 25 species 18 were capable of reducing. As regards the different bacteria in these experiments among them especially Bact. coli communis according to Rubner, Dieudonné and others a very effective reducing agent.

Especial worth of notice deserves also Bac. pyocyaneus the particular relation of which regarding the destruction of the nitrates has already been mentioned. In the experiments Bac. pyocyaneus did not however give the biggest values, the nitrite value, formed by Bac. prodigiosus being the greatest. Next to these the nitrite amount was greatest in the vegetative box under the influence of Bact. coli commune and almost the same result was received from symbios box. The lowest amounts of nitrite were found in the vegetative ground having been under the influence of Bac. subtilis. It is very difficult to decide with certainty whether this depends on Bac. pyocyaneus not being in these cases able to produce reduction or producing a complete denitrification and splitting up the nitrates to the elementary nitrogen.

In the latter calculations the greater loss of nitrogen point also to the latter supposition being the right one. As there was found nitrite also in the control box it is to be supposed, that the bacteria present were also reducing agents or that they were able to form nitrites. The formation of nitrites is however less likely because numerous nitrates were present.

Though the suppositions for the denitrification, firstly the presence of the nitrates, secondly the precence of the easy assimilative organic material, and thirdly the limited production of oxygen were but partially filled; the denitrification was considerably obvious even in these experiments. Yet it should be observed that the amount of nitrite thus produced may be present quite occasionally because the nitrite changes considerably after a limited time. Dieudonné for example noticed that Bac. pyocyaneus in a solution, which contained $^1/_{10000}$ potassium nitrate, after 4 hours at 37° C showed the presence of nitrite, but no more afte 17 hours inasmuch as after the first formation of nitrites a secondary formation of ammonia had already followed (8).

15. The determinations of nitrates.

The nitrate determinations again showed that in the different vegetative boxes after the experiments were to be found the following amounts of nitrate per 1 kg sand.

	N as nitrates + nitrites		N as nitrates per 1 kg sand		
	I	II	I	II	Average
Not inoculated (control)	142,30 mg	146,26 mg	137,10 mg	141,06 mg	139,08 mg
Bac. megatherium	112,56 ,,	117,00 ,,	106,26 ,,	110,76 ,,	108,32 ,,
Bac. mesentericus fuscus	111,30 ,,	105,98 ,,	104,16 ,,	98,84 ,,	101,51 ,,
Proteus vulgaris	116,15 ,,	110,73 ,,	108,6 ,,	103,19 ,,	105,60 ,,
Bac. pyocyaneus	84,75 ,,	90,81 ,,	80,98 ,,	87,04 ,,	84,02 ,,
Bac. subtilis	119,02[1]),,	121,06[1]),,	116,12 ,,	118,16 ,,	117,14 ,,
Bact. coli commune	84,58 ,,	86,62 ,,	75,84 ,,	77,88 ,,	73,50 ,,
Bac. prodigiosus	124,30 ,,	126,74 ,,	111,28 ,,	113,72 ,,	112,10 ,,
Bac. butyricus	100,55 ,,	96,09 ,,	96,08 ,,	91,92 ,,	94,21 ,,
Symbios	108,28 ,,	111,26 ,,	99,86 ,,	102,84 ,,	101,39 ,,

---

1) Average from two different determinations.

Regarding the original total nitrogen these values are in per cent equal to the following values:

	N as nitrate in per cent to the original total nitrogen	Difference from control
Not inoculated (control)	64,00 %	0,0 %
Bac. megatherium	55,53 „	— 8,5 „
Bac. mesentericus fuscus	52,06 „	— 14,22 „
Proteus vulgaris	53,70 „	— 11,52 „
Bac. pyocyaneus	42,82 „	— 29,47 „
Bac. subtilis	60,86 „	+ 0,80 „
Bact. coli commune	37,50 „	— 39,24 „
Bac. prodigiosus	57,25 „	— 5,66 „
Bac. butyricus	48,20 „	— 20,60 „
Symbios	51,91 „	— 14,49 „

As in the beginning of the experiments nitrogen (in the form of nitrates) corresponding to 80,2 % of the total nitrogen, had been put in all the vegetative boxes the loss of the nitrates-nitrogen in the control and in the grounds under the influence of different bacteria was found to be in per cent of the original nitrate-nitrogen as follows:

	Diminution of the nitrates in percentage of original nitrate-nitrogen
Not inoculated (control)	— 16,20 %
Bac. megatherium	— 24,67 „
Bac. mesentericus fuscus	— 28,16 „
Proteus vulgaris	— 26,50 „
Bac. pyocyaneus	— 37,38 „
Bac. subtilis	— 19,34 „
Bact. coli commune	— 42,70 „
Bac. prodigiosus	— 22,95 „
Bac. butyricus	— 32,00 „
Symbios	+ 28,29 „

These great differences in the nitrates are naturally at first sight to be explained so, that the different bacteria have been able to destruct the nitrates in quite another way. The differences that were found in the quantity of nitrogen assimilated by the plants were so small, that the assimilation alone could not possibly have brought about the great differences.

Though Berthelot (2) has mentioned that nitrates decreases in the soil by changing in organic form, and Rogoysky, Löhnis, Stoklasa and others disregarding to Flügge (11) consider it possible, that the other bacteria may assimilate nitrate, it seems probable, that it is principally denitrification which produces these differences because the denitrification also in these conditions is acording to van Iterson (29), Gillay-Aberson (16), Coleman (6), Jensen (31), Höflich (27), Stoklasa (65, 66, 67), and Müller (51) to be considered probable.

16. The determination of organic nitrogen.

At the end of the experiments, there were in the different boxes the following amounts of organic nitrogen pro 1 kg sand:

	N as organic form per 1 kg sand		
	I	II	Average
Not inoculated (control)	40,04 mg	36,96 mg	38,5 mg
Bac. megatherium	30,52 „	27,76 „	28,14 „
Bac. mesentericus fuscus	28,30 „	24,90 „	26,6 „
Proteus vulgaris	32,34 „	27,86 „	30,1 „
Bac. pyocyaneus	20,23 „	20,37 „	20,3 „
Bac. subtilis	30,36 „	32,64 „	31,5 „
Bact. coli commune	37,45 „	42,35 „	39,9 „
Bac. prodigiosus	31,32 „	26,08 „	28,7 „
Bac. butyricus	26,48[1] „	24,20[1] „	25,3 „
Symbios	38,62 „	42,80 „	40,7 „

Regarding the original totalnitrogen these numbers are again in per cent identical with the following values:

	N in organic form in per cent to the original total nitrogen	Difference from control
Not inoculated (control)	19,65 %	0,0 %
Bac. megatherium	14,35 „	— 26,98 „
Bac. mesentericus fuscus	13,57 „	— 30,95 „
Proteus vulgaris	15,38 „	— 21,73 „
Bac. pyocyaneus	10,75 „	— 45,30 „
Bac. subtilis	16,10 „	— 18,07 „
Bact. coli commune	20,40 „	+ 3,82 „
Bac. prodigiosus	14,66 „	— 25,40 „
Bac. butyricus	12,9 „	— 34,36 „
Symbios	20,79 „	+ 5,80 „

As in the beginning of the experiments every vegetative box had contained 19,8 % nitrogen in organic form the values of the organic nitrogen had thus varied at the end of the experiments as follows:

	Difference from the original organic nitrogen
Not inoculated (control)	— 0,15 %
Bac. megatherium	— 5,45 „
Bac. mesentericus fuscus	— 6,25 „
Proteus vulgaris	— 4,42 „
Bac. pyocyaneus	— 9,05 „
Bac. subtilis	— 3,70 „
Bact. coli commune	+ 0,60 „
Bac. prodigiosus	— 5,14 „
Bac. butyricus	— 6,90 „
Symbios	+ 0,99 „

Though the quantities of organic nitrogen that were occurring at the end of the experiments, had been in many respects nearly in agreement with the values, that in the beginning and during the experiments came to the vegetative ground in organic form, it is yet possible that regarding the organic nitrogen considerable alterations might have taken place during the experiments.

In several boxes the organic nitrogen had diminished considerably. In the control, Symbios and Bact. coli commune-boxes almost the same amounts of organic nitrogen occured and the values were almost the same as those of the organic nitrogen in all the boxes at the beginning. It is possible at any rate, that at the same time as in the control box, during the whole time of experiments the same organic material has preserved, Bact. coli commune has totally destroyed the original organic nitrogen and from the nitrates the corresponding portion of nitrogen has changed in organic form. At the same time in the symbios-box a partial destruction and the corresponding assimilation could also have taken place. Such variations can be explained by the before mentioned interpretation of Berthelot and by that of Rogoyski, Stoklasa, Löhnis and others.

---

[1] Average from two different determinations.

17. The quantitative calculations of the alterations of totalnitrogen.

Regarding the before mentioned determination of ammonia, nitrite, nitrate and the organic nitrogen, we may yet introduce the following calculations. As in the vegetative ground were put at the beginning of the experiment or each box 40,0 g $Ca(NO_3)_2$ and 10,0 g KNO_3 and in seeds 91,86 g and in broth 1,400 g organic nitrogen, there were in each vegetative box pro 1 kg sand:

as nitrates		157,17 mg N =	80,2 %
in organic form			
in seeds	15,31 mg		
in broth	23,33 „	38,64 mg N =	19,8 %
		195,81 mg N =	100,0 %

From this quantity of total nitrogen were dimished these quantities, which at the end of experiment had been found in the different vegetative boxes in form of ammonium, nitrite, nitrate and organic nitrogen.

If we use for the nitrogen quantities which at the end of experiments were found in different forms, the values expressed in percent to the original total nitrogen, added together and take this sum from 100 the remaining values represent in percent the alterations of total nitrogen.

	Loss of nitrogen in per cent to the original total nitrogen	Difference from control
Not inoculated (control)	0,26 %	0,0 %
Bac. megatherium	10,55 „	+ 580,16 „
Bac. mesentericus fuscus	16,10 „	+ 940,42 „
Proteus vulgaris	11,54 „	+ 649,35 „
Bac. pyocyaneus	27,45 „	+ 1683.90 „
Bac. subtilis	0,70 „	— 54,55 „
Bact. coli commune	26,64 „	+ 1629,99 „
Bac. prodigiosus	8,35 „	+ 474,75 „
Bac. butyricus	20,14 „	+ 121,44 „
Symbios	0,97 „	— 37,01 „

The loss owing to the different bacteriological influences in the vegetative ground might have arisen from the formation of ammonia, as well as a similar destruction of the nitrogen because of the different bacteria having changed a part of the organic nitrogen into other wasting compounds. The ammonia-formation is considered in many cases to be possible to the bacteria and Anderlik mentioned that Bac. megatherium can always change nitrogen in evaporating form. Disregarding Immendorff (28), Deherain, Gibson (17) and others have also noticed in the putrefaction of albumine the waste of nitrogen and this may also play a part in bringing about the above results. This loss may especially be due to the bacterial denitrification which varies very much with different bacteria. It is also to be noticed that a part of the loss of nitrogen may be of analytical nature; the nitrogen in the plants was determined by the methods of Kjeldahl and Deyer.

18. Summary of the results.

Bacillus megatherium. On account of the results from vegetative experiments the influence of Bac. megatherium is to be held generally unfavorable; germinating power of the seeds under its influence appeared to be lower than in the control seeds; difference from control — 4,6 %. The observations on the rapidity of growth of the plants have also shown that Bac. megatherium had impeded the development of the plants; difference — 21,9 %. With regard to the withering of the plants the influence of Bac. megatherium was not advantageous; difference — 13,2 %. On the development of the roots no deformity was noticable. The combined amount of organic nitrogen in the plants was less than in the control; difference — 3,38 %. Regarding the chemical examination of vegetative ground, the influence of Bac. megatherium was again as follows: In the development of ammoniac the Bac. megatherium gave the same result as that got from the control box; difference + 4,30 %. The amount of nitrite was comparatively a little larger; difference + 21,05 %. The amount of nitrate again was slightly less than in the control box; difference — 8,5 %. The organic nitrogen was also perceptibly less: difference 26,98 %. The loss of nitrogen corresponded to 10,55 % of the original total nitrogen; difference from control + 580,16 %.

Bacillus mesentericus fuscus. According to the vegetative experiments the influence of this bacterium has been troublesome, but not to such extent as the former ones. On the germination of the seeds its influence was comparatively small; difference — 3,0 %. The rapidity of the growth of the plants was lower than in the control plants; difference — 15,3 %. In the withering of the plants the difference from the control plants was very small, but sill in the troublesome direction; difference — 3,2 %. It had not caused any observable deformities in the roots. The combined amount of nitrogen in the plant was smaller than the nitrogen in the control; difference — 6,24 %. Regarding the chemical examination of the vegetative ground, the effects of the Bac. mesentericus fuscus compared with the control plants were: The amount of ammoniac was lower than in the control box; difference — 21,78 %. The amount of nitrite was larger; difference 37,21 %. The amount of nitrate was a good deal lower; difference — 14,22 % and also the organic nitrogen was less than in the control box; difference — 30,95 %. The loss of nitrogen was comparatively corresponding to 16,10 % of the original amount of nitrogen; difference from control + 949,42 %.

The influence of Bac. mesentericus fuscus on the alterations of the nourishing nitrogenic matter in the vegetative ground had thus in many respects been the same as that of Bac. megatherium. However the destruction of nitrate and the loss of nitrogen were observably larger.

Proteus vulgaris. According to the vegetative experiments the influence of Proteus vulgaris was only in some respects pernicious. To some extent it retarded germination of the seeds; difference — 2,6 %. The rapidity of growth was a little lower than in the control plants; difference — 15,3 %, but in the withering of the plants the Proteus vulgaris plants preserved themselves quite as well as the control plants; difference + 1,3 %. In the roots of the plants no deformities could be observed. The combined amount of nitrogen was perceptibly smaller than in the control plants; difference + 9,04 %. Regarding the chemical examination of the vegetative ground, the effects of Proteus vulgaris were such. The amount of ammoniac was only a little less than in the control box; difference — 4,73 %. The quantity of nitrite was to some extent larger; difference + 44,73 % and the quantity of nitrate noticeably lower; difference — 11,52 %. The organic nitrogen was really less than in the control box; but still larger than under the influence of the before named bacteria; difference from control — 21,73 %. The loss of nitrogen was + 11,54 % of the original total nitrogen; difference from control + 649,35 %. The consumption of nitrates under the influence of Proteus vulgaris in the vegetative ground was larger than in the control box. Otherwise the values obtained were less observable varying between the control and the corresponding values of other bacteria.

Bacillus pyocyaneus. According to the vegetative experiments the influence of this bacteria was in all respects pernicious. The germination of seeds had comparatively suffered little; difference —2,9 %. The growing rapidness of the plants was only a little lower than that in the control plants; difference — 10,4 %. On the withening of the plants the number of withered plants appeared to be a good deal larger; difference — 23,7 %. No deformities on faults in the roots of the plants all the same could not be observed. The amount of combined organic nitrogen was a great deal less than in the control; difference — 9,4 %. Regarding the chemical examination of the vegetative ground the Bacillus pyocyaneus has influenced so that the amount of ammoniac was almost the same in the control box; difference — 2,58 %. The amount of nitrites was observably larger; difference + 48,87 %. The amount of nitrates was a great deal lower than in the control box; difference — 29,47 %. The amount of organic nitrogen was particularly small, less than in any of the other boxes; difference from control — 45,30 %. The loss of nitrogen was 27,45 % of the original total nitrogen; difference from control + 1683,9 %. It has already been mentioned about the particular relation of Bac. pyocyaneus to the nitrates. Also in these cases the loss of nitrogen caused by it was very large. The amount of nitrate in the vegetative boxes, which were under the influence of Bac. pyocyaneus was certainly larger than in the box of Bact. coli commune but the loss of nitrogen caused by Bac. pyocyaneus was the largest of all.

Bacillus subtilis. In the vegetative experiments Bacillus subtilis had shown to have a thoroughly advantageous influence. Regarding the germination of the seeds, it had not caused any disturbance; difference 0,0 %. The rapidness of the growth of the plants had been considerably better in the control plants; difference + 20,0 %. The withering of the plants had given the same even a little better result than in the control plants; difference + 2,6 %. These bacteria had no particular influence on the formation of the roots of the plants. The amount of the combined organic nitrogen in the plants was larger than in the control; difference + 2,46 %. The influence of Bac. subtilis appeared in the vegetative ground to be as follows. The amount of ammoniac was remarkably larger than in the control box; difference + 55,46 %. The amount of nitrite was also a great deal less; difference — 44,36 %. The nitrates had been preserved better than anywhere else; difference from control + 0,30 %. The organic nitrogen was lower than in the control box; difference — 18,07 %. The loss of nitrogen was in respect to other very little giving + 0,70 % of the original total nitrogen; difference from control 54,55 %. Regarding the preservation of nitrogen Bac. subtilis had acted advantageously. No direct assimilation of nitrogen which for instance, Kowalewsky (36) has asserted Bac. subtilis to have, has happened, but the results arrived at, came from the fact that Bac. subtilis was at least under these conditions unable to disperse the nitrates. According to Jacobitz (30) it is impossible for Bac. subtilis to assimilate nitrogen, and not taking notice of Waringtons and Fichtenholz' results it also was an impossibility to denitrificate it.

Bacterium coli commune. In the vegetative experiments these bacteria had shwon partly advantageous and partly disadvantageous results. The germination of the seeds were to some extent impeded; difference — 3,5 %, but instead under its influence the growing rapidness of the plants was observably greater than in the control plants; difference + 13,1 %. The withering of plants it had to a certain extent increased; difference — 8,0 %. In the roots of the plants it had not caused any deformities. The amount of combined organic nitrogen was smaller than in the control; difference — 5,73 %. The chemical examination of the vegetative ground again showed that Bact. coli commune in comparison to the control plants had influenced that the amount of ammoniac was quite worthlessly small; difference from control + 74,37 %. The amount of nitrite again was larger than any where else; difference + 67,66 %. The amount of nitrate was also lower than any where else; difference — 39,24 %. The organic nitrogen was very near the same as in the control box; difference — 3,82 %. The loss of nitrogen was comparatively larger, corresponding 26,64 % to the original total nitrogen; difference from control + 1629,99 %.

Bacillus prodigiosus. In the vegetative experiments the influence of this bacteria was altogether disadvantageous. The germination of the seeds was lower than any where else; difference — 6,6 %. The growing rapidness of the plants was after Bac. megatherium the most wretched; difference — 16,6 %. In the withering of the plants the difference from control was — 4,1 %. In the formation of the roots or any damage to them, however no particular differences could be observed. The amount of combined organic nitrogen was smaller than in the control; difference — 4,20 %. The chemical examination of the vegetative ground again showed that the quantity of ammoniac was very small; difference from control — 53,74 %. The quantity of nitrite almost the same as in the control box; difference — 44,36 %. The quantity of nitrate was nearly equal to the result of the control box; difference — 5,66 %. The organic nitrogen was some what lower than in the control box; difference — 25,40 %. The loss of nitrogen larger than in the control box corresponding 8,35 % of the total original nitrogen; difference from control + 474,71 %. Bac. prodigiosus had even under these conditions shown itself able to reduce with regard to which particularly a warm condition was held to be advantageous because according to Müller it reduces room temperature but not in a thermostatic state. Also Klett has observed the reducing qualities of Bac. prodigiosus.

Bacillus butyricus. In the vegetative experiments Bacillus butyricus has only partly shown itself pernicious. The germination

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

of seeds was equal to the result of the control; difference — 0,2 %. The growing rapidness of the plants had however suffered observably; difference — 15,0 %. In the withering of the plants was quite a slight exception in a pernicious direction to be observed; difference — 1,2 %. In the roots of the plants no particular influence could be observed. The amount of combined organic nitrogen was smaller than in the control plants; difference — 5,73 %. In the chemical examination of the vegetative ground the influence of Bac. butyricus was such that the amount of ammoniac was almost the same as in the control box; difference — 2,58 %. The amount of nitrite was the same, very nearly equal to the result of control box; difference — 13,91 %. The organic nitrogen was again much lower than in the control box; difference — 34,36 %. The loss of nitrogen was lesser than in the control box corresponding 20,14 % of the total original nitrogen; difference from control — 37,01 %. Also Bac. butyricus had thus compared with the control increased the loss of nitrogen. While at the same time the amount of ammoniac and nitrite were almost comparable to the control, the loss of nitrogen comparatively a great deal larger.

Symbios. In the vegetative experiment symbios showed to have influenced thus that the germination of the seeds had to some extent impeded; difference from control — 3,3 %. The rapidness of the growth was a little lower than in the control plants; difference — 3,7 %. In the withering of the plants the results were the same as in the control; difference + 1,6 %. In the roots of the plants no damages could be observed. The amount of the combined organic nitrogen in the plants was smaller than in the control plants; difference — 5,42 %. The examination of the vegetative ground showed that the amount of ammoniac was larger than anywhere else; difference from control + 83,4 %. The amount of nitrites was again observably lower; difference + 61,65 %. The amount of nitrates was smaller than in the control box; difference — 16,49 %. The amount of organic nitrogen was almost the same as in the control box; difference + 5,80 %. The loss of nitrogen corresponded 0,97 % of the original total nitrogen; difference from control — 37,01 %. In the vegetative ground which was under the influence of Symbios the loss of nitrate was thus larger than in the control box. While at the same time the loss of nitrogen was unconsiderably small, the denitrification seems not to have happened. As the amount of organic nitrogen was largest of all it may have been possible that it partly assimilated and changed to albumen-nitrogen as Jensen (32), Berthelot (2) and Löhnis (43) have explained.

To make the comparison easier I will introduce the following tables which are shown in different columns.

I. The germination of the seeds in per cent.
II. The rapidness of the growth of the plant being reduced to correspond to the value of that in the control plants value = 100.
III. The number of the unwithered plants in percentages.
IV. The organic nitrogen in the plants
V. The ammoniac in the vegetative ground
VI. The nitrite in the vegetative ground
VII. The nitrate in the vegetative ground
VIII. The organic nitrogen in the vegetative ground
IX. The loss of nitrogen
} in percentages of the original total nitrogen.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Non inoculated (control)	100,0	100,0	100,0	9,77	6,98	2,66	60,68	19,65	0,26
Bac. megatherium	95,4	78,1	86,8	9,44	7,01	3,22	55,53	14,35	10,55
Bac. mes. fuscus	97,0	84,7	96,8	9,16	5,46	3,65	52,06	13,57	16,10
Proteus vulgaris	97,4	87,5	101,3	8,88	6,65	3,85	53,70	15,38	11,54
Bac. pyocyaneus	97,1	98,6	76,3	8,22	6,80	3,96	42,82	10,75	27,45
Bac. subtilis	100,0	120,0	102,6	10,01	10,85	1,48	60,86	16,10	0,70
Bact. coli commune	96,5	113,1	92,0	9,21	1,79	4,46	37,50	20,40	26,64
Bac. prodigiosus	93,4	83,4	95,9	9,36	3,23	6,65	57,25	14,66	8,35
Bac. butyricus	99,8	85,0	98,8	9,21	7,16	2,29	48,20	12,90	20,14
Symbios	96,7	96,3	101,6	9,24	12,80	4,30	51,90	20,79	0,97

19. Conclusions.

Though my work is essentially based on the particular results having been described already and the general conclusions are of less significance I will howerer introduce some of the most important.

1. According to the quality of the bacteria, to their virulencive degree and to the external conditions the free living soil bacteria are able to influence upon the development of the plants.

2. Under artificial, effective inoculation this influence appears in the germination of the seeds, in the rapidity of the growth of the plants and in the withering relations.

3. The influence of different bacteria are to some extent equal to the different developing degrees of the plants.

4. Also the influence of each bacteria is partly equal to the different vegetable species.

5. The particular specific influence — either favourable or pernicious — of different bacteria can thus be observed.

6. The bacteria however have in no respect any absolutely improving or impeding qualities, but their influences are only comparatively prominent and very limited, depending upon the different opposing ability of the particular individuals of seeds and plants.

7. No bacteria-species used in the experiments seemed to have any phytopathogenic qualities regarding the formation of the roots.

8. The vegetative ground under the influence of different bacteria contained at the end of the experimentation different amounts of ammonia, being larger there, where the development of the plants had been better.

9. Also the amount of nitrite which was found, vary observably and it was in general larger where the development of the plants had been weaker.

10. Of the same amount of nitrate, which was put in each vegetative ground in the beginning of the experiments, quite different amounts were to be found and the amount of nitrate was larger where the development of the plants had been better.

11. Of the organic nitrogen in the vegetative grounds the differences were comparatively considerable, but that did not appeare to bear any certain proportion to the development of the plants.

12. The loss of nitrogen occasioned by the different bacteria varied a good deal, being usually greater in the vegetative grounds under the influence of the bacteria than in the control grounds.

In all probability the simultaneous presence of the bacteria is in general noxious to the plants — though plants in general have powers of resistance as regards the bacteria living freely in the soil. However advantageous the influence of the bacteria may be under circumstances where the dissolution of the organic materials, dissolving of the mineral materials and other indirect actions can take place, their simultaneous action in the soil and their direct action on the plants is generally to be considered as unfavourable. The reasons why the influences of the bacteria are so different proved to be various, but the influences appeared to be closely dependent on the proportion of nitrogenous plant-food in the vegetative ground.

Though developing simultaneously and in the same vegetative ground the plants and bacteria are both able to develop independently of each other if the external state of matters allow it. If there is nutritive matter enough both of them can supply their want of the same. It is also probable that the sound and normally developed plants are in the first instance able to supply their wants and bacteria can only exceptionally deprive the plants of their necessary nutritive matter.

Though the changes caused by the different bacteria were in these experiments so great, it is yet rather difficult to draw inferences according to these experiments of what account the favourable or pernicious influences of these bacteria would be in practice. Considering that the influence of the bacteria had been in these experimentations developed considerably efficient by means of several powerful infections, we must suppose that the corresponding actions of the bacteria are much less in nature.

On the other hand we are when estimating the significance of the bacteria on the development of the plants, obliged to observe that the circumstances under which the bacteria acted were also quite particular though the possibilities to influence were on the other hand made artificially as efficient as possible.

According to how Stoklasa for instance describes the influence of Bac. megatherium the circumstances cannot be considered favourable for the action of the bacteria. In his explanation on the influence of Bac. megatherium, Stoklasa says (68): "daß durch die Einwirkung jener Mikroben die Zersetzung eingetreten ist und der Stickstoff in verschiedenen organischen Formen in Lösung übergeführt werde, welche die Pflanze zum großen Teile durch ihre Haarwurzeln resorbieren kann und die eventuell noch weiter in anorganische Nährstoffe (Ammoniak) übergehen".

Because the results from experiments of these kinds are dependent on the special and individual qualities of both plants as well as of bacteria and the power to act and react more over dependent on the circumstances, I do not consider it justifiable to adapt these results to other bacteria or circumstances, on which account I neither regard it necessary to compare these results more closely with studies in which, it is true, corresponding phenomena have been treated, but in which the species of bacteria are different or not specified.

20. Concluding words.

The experiments already described and the results of them had consequently showed that the presence of bacteria had in most cases been unfavourable. As no bacteria however seemed to be able to hinder absolutely the development of the plants and the changes in nitrogen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nutritive matter of the vegetative ground were so remarkable, the bacteria in question cannot be asserted to have got any phytopathogenic qualities. Neither is it probable that these bacteria could occasion in practice any considerable disturbances in the development of plants. Through the dissolution and loss of nitrogen food-matter their influence appeared to be very remarkable. Attention must be payed however to the inoculation of the unnatural intensity used in these experiments, as well as to the fact that this dissolution of nitrogen-matter might under other circumstances be even desirable.

As to the opinions of Hiltner, Peters, Linhart and some others, that certain bacteria might be able to occasion some "fatigue in the soil", such might be possible under particular circumstances but at least there is no reason to suppose that it could be caused by the species of bacteria used in these experiments. Though the virulence of bacteria individuals under some circumstances would be even higher and the circumstances for their influences more advantageous, the numerous symbios relations in which they are in nature, are apt to diminish their influence and thus the results cannot be considered to have been caused by them alone. As in these experiments Bacillus subtilis only proved to act favourably and Bac. megatherium as well as many others unfavourably, the remarks of Krüger and Schneidewind made me think of the possibility, that the difference in opinions regarding the identity of alinite-bacillus and especially the different results of the experiments were caused in the alinite-preparation. According to the remarks which have been made regarding the identity of bacteria in the alinite-preparations it cannot of course be asserted that it would have been composed of these bacteria only. As it cannot however be supposed that an incomplete diagnosing or false observations could have occasioned any differences in opinions, they must have been caused either by the unequal virulence of the bacteria or by prevalence of different bacteria (possibly and probably Bac. subtilis and Bac. megatherium).

The artificial — both qualitative and quantitative — arranging of the bacteria-flora in the cornfields it is not in this respect worth paying attention to the species of bacteria used in these experiments. The extermination of particular species of bacteria is in my opinion out of question and the spreading of the, one species, which had in these experiments acted favourably does not answer at least in the mineral-grounds.

As may also be concluded from these experiments, the significance of the bacteria regarding the vegetable production seems to be nearly dependent on their relation to nitrogen and its compounds. Most prominent was the observation that the presence of most bacteria caused a remarkable destruction of nitrate.

The intense of inoculation, could have caused the reduction of nitrates at the same time both enzymatically and by the direct action of bacteria.

This is however difficult to decide; although Fuhrmann also says (15):

"Ueber die Natur der bakteriellen Reduktasen wissen wir nichts. Es ist übrigens noch sehr zu überlegen, ob bei allen bakteriellen Reduktionsvorgängen diese Enzyme vorhanden sind. Eine Anzahl dieser Vorgänge kann mit gutem Rechte auf eine direkte Lebenstätigkeit der

Zelle ohne Zutun eines Enzyms bezogen werden. Dabei sind in erster Linie die denitrifizierenden Bakterien im Auge zu behalten."

Further it is to be remarked that all the aforesaid changes of the nitrogen nourishing matter in vegetative ground need not be absolutely caused by the corresponding bacteria, but may have occured in a mere chemical way. **Sestini** has observed that the fixed amount of ammonia can be changed into nitric acid by the catalytic action of iron oxyhydrate (57). Although in these experiments such a change could not be attributed to such causes the results may have been affected by them to same extent.

In addition to these changes in the vegetative ground the possibility presents itself that many other circumstances also as for instance acid-relations (19) etc. may have had on their part an influence upon the results.

The experimental part of the above investigation has been carried out during the period between May 1907 and February 1908. The manuscript has been sent to the print in April 1909.

Literature.

1) **Andrlik**, Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen. Jahrg. XXVII. 1902. p. 109; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 219.
2) **Berthelot**, Compt. rend. de l'Acad. d. sc. 1888. p. 638.
3) **Caron**, Landw. Versuchsstat. Bd. XLV. 1895. p. 401.
4) **Charrin**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. p. 456.
5) **Cohen**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. II. 1887. p. 386.
6) **Coleman**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 484.
7) **Cornauth**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIX. p. 801.
8) **Dieudonné**, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XI. 1895. p. 508.
9) **Duclaux**, Compt. rend. de l'Acad. d. sc. 1886; Ref. **Macé**, E., Traité pratique de bactériologie, p. 688.
10) **Düggeli, Max**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 602, 695.
11) **Flügge**, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896. Bd. I. p. 119.
12) **Frank**, A. B., Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges. Bd. XIII. 1896. p. 25.
13) —, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 542.
14) **Franz, v. Porthers und Yamanouchi**, Biochem. Centralbl. Bd. VI. No. 18. p. 749.
15) **Fuhrmann**, Vorlesungen über Bakterien-Enzyme. p. 99.
16) **Giltay-Aberson**, **Czapek**, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. p. 114.
17) **Gibson**, On the liberation of nitrogen during the process of putrefaction. 1893; Ref. **Wollny**, Forsch. a. d. Geb. d. Agrik.-Phys. Bd. XVIII. 1895. p. 106.
18) **Gottheil**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901.
19) **Hall, Miller and Gimingham**, Proceed. Royal Society. Series B. Vol. VIII. No. B 539. p. 196.
20) **Hiltner**, Arb. a. d. Kais. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. V. 1906. p. 99; [Dissert.] Journ. prakt. Chem. 1855. p. 94; Ref. **Nobbe**, Samenkunde. p. 158.
21) —, Deutsche landw. Presse. Bd. XXVIII. 1901. p. 203.
22) —, Arb. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. Heft 98. p. 59.
23) **Hiltner und Peters**, Arb. a. d. biolog. Abt. am Kais. Ges.-Amt. Bd. IV. 1904. p. 207.
24) **Hiltner und Störmer**, Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens. (Arb. a. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstw. am Kais. Ges.-Amt. Bd. III. Heft 5. p. 487.)
25) **Hoffmann**, Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XIII. 1896. No. 44; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 606.
26) **Houston**, Twenty-seventh annual Report of the Local Government Board. 1897/98; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XXV. 1899. p. 773.
27) **Höflich**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 247 u. 276.
28) **Immendorff**, Journ. f. Landw. Bd. XLI. 1893. p. 1.
29) **Iterson, van**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 106.
30) **Jacobitz**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 97; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 712.

31) Jensen, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. IV. 1898. p. 405 u. 449.
32) —, ibid. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 401.
33) —, ibid. Bd. VIII. 1902. p. 11.
34) Kjeldahl-Dyer, Mayer, Hans, Analyse und Konstitutionsermittelungen organischer Verbindungen. Berlin 1903.
35) Klett, Ad., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1901. p. 137; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 342.
36) Kowalewsky, Russ. Arch. f. Pathol. Bd. VI. 1898. p. 251; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. XXV. 1899. p. 771.
37) Krüger und Schneidewind, Landwirtsch. Jahrbücher. 1899. p. 579; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 543.
38) Lauck, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 290.
39) Laurent, Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique. Sér. III. T. IX. 1886.
40) Lepoutre, L. M., Annales de l'institut Pasteur. T. XVI. p. 304; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 189.
41) Linhart, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 221.
42) Löhnis, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 1.
43) —, Deutsche Landw. Presse. Jahrg. 1904. No. 86; Ref. Kochs Jahresber. Bd. XV. 1904. p. 434.
44) Maassen, Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XVIII. 1901. Heft 1. p. 21. 77.
45) Maercker, Jahrb. d. agrikultur-chem. Station in Halle 1896 u. 1897.
46) Manfredi und Serafini, Arch. f. Hyg. Bd. XI. Heft 1. p. 1.
47) Marchal, The production of ammonia in the soil be microbes. (Agricult. Science. Vol. VIII. 1894. p. 574; Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 753.)
48) Migula, System der Bakterien. Bd. I. Jena 1897. p. 311.
49) Morgen, Org. Zeitung. 1907. Tab. III a. Vers. III. p. 588; Ref. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. II. 1904. p. 111.
50) Fichtenholz, Compt. rend. de l'Acad. T. CXXVIII. 1899. p. 442.
51) Müller, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XXVI. 1899. p. 55 u. 818.
52) Pammel, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. 1901. p. 444.
53) Russel, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XV. p. 169.
54) Sackett, Patten, Brown, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 688.
55) Behrens, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 707.
56) Schulze, Jahresber. d. Vereinig. d. Vertr. d. angew. Botanik. Jahrg. 1. 1903. p. 36 Ref. Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 716.
57) Sestini, Landwirtsch. Versuchst. Bd. LX. p. 106; Ref. Kochs Jahresber. Bd. XV. 1904. p. 437.
58) Sievert, Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. I. Jena 1905. p. 127.
59) Sigmund, Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstw. Bd. III. 1905. p. 212.
60) Weissenberg, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 170.
61) Stoklasa, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 708.
62) —, Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Jahrg. III. p. 440—446.
63) —, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IV. 1889. p. 687.
64) —, Blätter f. Zuckerrübenbau. Jahrg. 1904. p. 321.
65) Stoklasa und Vitek, Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Jahrg. IX. 1906. p. 49—105.
66) Stoklasa, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XVII. 1905. p. 27.
67) Stoklasa, Jelinek und Ernest, Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Jahrg. IX. 1906. p. 844.
68) Stoklasa, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 509.
69) Stutzer und Hartleb, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 31.
70) Stutzer, Journ. f. Landwirtsch. 1906. p. 125.
71) Stutzer, Burri, Herfeldt, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 852.
72) Tiemann und Gärtner, Die chemische und mikroskopisch-bakteriologische Untersuchung des Wassers. p. 151.
73) Vignal, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 66.
74) Wagner, Deutsche Landw. Presse. 1895. p. 92.
75) Warington, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VI. p. 499.
76) Wollny, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. I. p. 444.

Nachdruck verboten.

Milchanalysen.

Von **J. Vanderleck,** Macdonald College, Que. Canada.

Schon seit Jahren sind durch die Section of the American Public Health Association Versuche gemacht worden, um eine Vereinheitlichung der Milch- und Wasseranalysen einzuführen, damit die Resultate besser vergleichbar würden und die Analysen der Wirklichkeit am nächsten kommen sollten.

F. C. Harrison und Schreiber dieser Arbeit haben im letzten Jahre mehrere Punkte einer genauen Untersuchung unterworfen. Zum Teil waren diese Punkte schon untersucht und zum Gebrauch empfohlen, während andere zum ersten Male probiert wurden. Hill hatte einen unglasierten Tondeckel vorgeschlagen, um ein Ueberwachsen der Platten mit überwuchernden Bakterien zu verhindern. Diese Ueberwachsung geht leichter vor sich, wenn die Platten feucht sind. Zweck dieser Tondeckel ist, das an der Oberfläche ausgepreßte Wasser zu absorbieren. Eine andere, zu diesem Zwecke angewandte Methode ist die, die Agar-Agar-Platten über einer Gasflamme zu erhitzen, wobei das Wasser sich auf dem kalten Deckel kondensiert. Nach einigen Minuten werden dann die Kulturplatten umgekehrt auf einen sterilen Tisch gelegt und das Wasser auf dem Deckel in der Flamme verdunstet. Diese Methode hat aber zwei große Nachteile, erstens kostet es sehr viele Zeit, um das Wasser zu verdunsten, und zweitens ist sie nicht gut auszuführen mit gemischten Platten (wobei die Bakterien in das flüssige Kulturmedium verteilt werden). Wo Oberflächenkulturen benutzt werden, fällt der zweite Einwand hin. F. C. Harrison hat Versuche gemacht, um die ausgepreßte Flüssigkeit mit Glyzerin zu absorbieren, und wir wollen unsere Besprechung mit diesem Punkte anfangen.

1. Agar-Agar-Plattenkulturen.

Von der zu untersuchenden Milch wurde immer eine ausführliche Analyse gemacht und alle Experimente wurden in duplo ausgeführt. Es wurden sieben verschiedene Methoden versucht:

1) Gewöhnliche Agar-Agarplatten, die Milchverdünnung mit vorher geschmolzenem Fleischbouillonagar gemischt.

2) Platten, behandelt wie nach 1, jedoch nach dem Festwerden vorsichtig getrocknet.

Dieses geschah auf einer erwärmten Kupferplatte, welche auf ungefähr 55 ° C gehalten wurde, und dauerte ungefähr ein halbe Stunde.

3) Agar-Agarplatten für Oberflächenkultur, auf oben genannte Weise getrocknet.

4) Platten, behandelt nach 3, aber auch getrocknet nach dem Aufbringen der Milch.

5) Agar-Agarplatten mit Mischkultur und mit einem unglasierten Tondeckel versehen.

6) Agar-Agarplatten mit Mischkultur und einem einzigen Tropfen Glyzerin in den Deckel gebracht.

7) Dieselbe Platte, wie 6, nur war hier der Glyzerintropfen auf Filtrierpapier gebracht.

In den Thermostaten war, um die Luft feucht zu erhalten, Wasser

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gebracht worden. Alle Platten wurden unter Glasglocken, und, ausgenommen diejenigen mit den Tondeckeln, umgekehrt aufbewahrt. Die Versuche 2, 3, 4 wurden nur eine kurze Zeit ausgeführt und nachher als unbrauchbar aufgegeben. Am Schlusse sollen diese Nachteile kurz besprochen werden. Im ganzen wurden 29 Milchproben untersucht.

Tabelle I.

	1	2	3	4	5	6	7
1	6 000 000	200 000	—	700 000	—	4 000 000	4 000 000
2	100 500	100 000	20 000	10 000	120 000	100 000	96 000
3	45 000	40 000	—	5 000	40 000	30 000	30 000
4	16 000	—	—	50 000	350 000	—	100 000
5	55 000	85000	—	30 000	80 000	85 000	80 000
6	290 000	90 000	40 000	40 000	350 000	120 000	100 000
7	10 000	3 000	2 500	1 900	50 000	54 000	45 000
8	45 000	20 000	45 000	50 000	80 000	90 000	40 000
9	500 000	530 000	436 000	500 000	190 000	200 000	60 000
10	990 000	340 000	420 000	500 000	220 000	1 500 000	1 500 000
11	35 000	10 000	12 000	43 000	26 000	30 000	30 000
12	55 000	30 000	23 000	25 000	—	75 000	75 000
13	40 000	9 000	12 000	5 000	65 000	105 000	105 000
14	92 000	90 000	95 000	—	110 000	108 000	108 000
15	500 000	—	230 000	—	1 500 000	1 200 000	1 200 000
16	54 000	—	43 000	—	40 000	60 000	60 000
17	150 000	—	98 000	—	40 000	400 000	400 000
18	400 000	—	370 000	—	400 000	400 000	400 000
19	550 000	—	—	—	600 000	550 000	550 000
20	220 000	—	—	—	10 000	75 000	75 000
21	600 000	—	—	—	900 000	900 000	900 000
22	990 000	—	—	—	600 000	600 000	600 000
23	36 000	—	—	—	40 000	54 000	50 000
24	480 000	—	—	—	4 250 000	2 700 000	2 700 000
25	70 000	—	—	—	65 000	80 000	80 000
26	14 000	—	—	—	—	8 000	8 000
27	100 000	—	—	—	200 000	240 000	240 000
28	9 000	—	—	—	9 000	19 000	19 000
29	10 000	—	—	—	10 000	11 000	11 000

Die Platten wurden immer 48 Stunden kultiviert, was jedoch bei den Platten mit porösen Deckeln unmöglich war, da sie nach 36 Stunden immer völlig ausgetrocknet waren. Demzufolge sind die Ziffern in Reihe 5 im allgemeinen zu niedrig.

Die Platten mit Glyzerintropfen im Deckel zeigten keinen Unterschied gegen die Platten, worin der Tropfen auf Filtrierpapier gebracht war. Die letzteren hatten den Vorteil, eine nahezu trockne Platte noch nach 48 Stunden zu bewahren, während bei den Platten mit dem Tropfen im Deckel diese immer mit Flüssigkeit gefüllt waren. 3 und 4 waren also ohne Wert. Wie schon gesagt, kostete das Trocknen zu viel Zeit, und trotzdem konnte nur $^1/_2$ ccm aufgebracht werden, während für die Mischkultur immer 1 ccm benutzt wurde. Dieser $^1/_2$ ccm machte die Platten, die nach 3 behandelt waren, so feucht, daß in den meisten Proben die Oberfläche schon nach 24 Stunden überwachsen war. In 4 hatten wir dieses Hindernis nicht, die Keime scheinen jedoch beim zweiten Trocknen abgeschwächt zu werden, so daß die befundenen Zahlen zu klein waren. Für Arbeiten in Kontrollaboratorien müssen alle zeitraubenden Arbeiten vermieden werden, was von selbst das Trocknen der Platten verbietet.

Fassen wir die Resultate in einer Tabelle zusammen, so finden wir:

Höchste Zahl:
1 = 5 mal
2 = 1 „
3 = — „
4 = 1 „
5 = 7 „
6 u. 7 = 15 „

Vergleichen wir 1, 5 u. 6:
1 = 7 mal
5 = 7 „
6 = 15 „

Vergleichen wir 5 u. 6:
5 = 8 mal
6 = 21 „

Wir haben in der Tabelle die exakten Ziffern gegeben, so daß jeder für sich urteilen kann, obschon sie nicht so lehrreich sind, als die Beobachtung der Platten selbst. Unsere persönliche Meinung ist, daß die Platten mit dem Glyzerinfilterpapier bei weitem den Vorzug vor allen anderen verdienen, und wir haben bis jetzt keinen einzigen Einwand gegen den Gebrauch derselben zu machen gehabt.

2. Eine einfache Milchprobe in Reagenzgläsern.

Schon seit Jahren pflegt man in der Emmentaler Käsefabrikation die Milch vor dem Gebrauche einer Gärprobe zu unterwerfen, und die Molkereischule Rütti hat im Jahre 1906 eine Tabelle herausgegeben, worin vier Standardtypen angenommen werden, nämlich gallertartig, käsig, ziegerig und gebläht. Die Milch wird in Reagenzgläser getan, mit einem Wattepfropfen verschlossen und 24 Stunden bei 38° C kultiviert. Der Typus gallertartig, der gewünschte für die Käserei, ist auch der gewünschte für Trinkmilch. Versuche mit verschiedenen Milchproben wurden angestellt, und immer wurde eine vollständige Kontrollanalyse gemacht, um die Resultate besser beurteilen zu können. Die zu prüfende Milch wurde nach 5 verschiedenen Weisen behandelt:

1) 10 ccm Milch mit 0,3 ccm 5-proz. Phenol.
2) 10 „ „ „ 0,3 „ 5-proz. „ und Neutralrot.
3) 10 „ „ „ 0,3 „ 5-proz. Gallensalz (Natriumtaurocholat).
4) 10 „ „ „ 0,5 „ 5-proz. „ „
5) 10 „ „ „ 0,3 „ 5-proz. Neutralrot

Wir wollen nun irgendeinen Versuch herausgreifen und die Einzelheiten beschreiben:

Versuch 1: Die Analyse der Milch erweist, daß wir es mit einem sehr schlechten Produkte zu tun haben. In dem Reagenzglas mit Phenol ist der Käsestoff zur Hälfte zusammengezogen und mit Gasblasen durchsetzt. Die Molke ist weiß.

Versuch 2: Dieselben Erscheinungen wie in 1, und überdies ist das Neutralrot kanariengelb gefärbt.

Versuch 3: Wie 1.

Versuch 4: Die Milch ist teilweise peptonisiert, die Molke gelb, der Käsestoff zusammengezogen und mit Gasblasen durchsetzt..

Versuch 5: Wie 4, überdies kanariengelb gefärbt.

Im ganzen wurden 50 Proben untersucht. Wir wollen keine vollständigen Resultate geben, sondern nur aufmerksam machen, daß im Vergleiche mit der vollständigen Analyse die besten Erfolge zu erwarten sind, wenn 4 und 5 benutzt werden. Alle Fäulnisbakterien werden namentlich durch Phenol und Gallensalz ausgeschlossen.

Wir können an der Hand unserer Versuche die Milch in 4 verschiedene Gruppen einteilen:

1) Sehr gute Milch, ohne B. Coli und Fäulnisbakterien, nur gute kräftige Milchsäurebakterien enthaltend. 10 ccm von dieser Milch in ein Reagenzglas gebracht und 24 Stunden bei 38° C kultiviert, gibt ein zusammenhängendes Gerinnsel, ohne Ausscheidung von Molke; das Neutralrot bleibt unverändert.

2) Milch, worin Bakterien von der Coli-Gruppe in bedeutender Zahl vorkommen; das Gerinnsel enthält Gasblasen; das Neutralrot ist fluoreszierend.

3) Milch mit viel Coli-Bakterien. Das Gerinnsel ist zusammengezogen, enthält viel Gas und das Neutralrot ist kanariengelb.

4) Milch, viel Fäulnisbakterien enthaltend. Die Milch ist teilweise peptonisiert und die Molke gelb gefärbt.

Man wird natürlich oft Zwischenstufen antreffen, diese sind jedoch nach unserer Erfahrung sehr leicht auf die oben genannten 4 zurückzubringen.

3. Der Gebrauch von Plattenkulturen zur Auffindung von Colibakterien.

Für Wasseruntersuchungen ist ein Neutralrotagar-Medium im Gebrauch, zum Nachweis von Coli-Bacillen. Da wir jedoch gefunden haben, daß die rotgefärbten Kolonieen oft nichts mit der Coli-Gruppe gemein hatten und die Coli-Bakterien in Milch sowieso schwächer sind, als die im Wasser, so suchten wir die Neutralrotmethode durch eine andere zu ersetzen. Im Centralblatt, 1906, zweite Abteilung, war schon das Aeskulin erwähnt in einem Aufsatz über aromabildende Bakterien. Es leistete uns hier gute Dienste und ergab bessere Resultate, als das Neutralrot.

Die folgenden Nährböden wurden nun einer Probe unterworfen:

1) Neutralrot-Gallensalz-Gelatine. Destilliertes Wasser 1000 ccm, Wittes Pepton 2 Proz., Laktose 1 Proz., Natriumtaurocholat (Gallensalz) 0,5 Proz., Neutralrot in 1-proz. Lösung 0,5 Proz., Gelatine 10 Proz. (nach Grünbaum und Hume).

2) Neutralrot-Gallensalz-Agar. Dieselben Bestandteile wie 1, nur ist die Gelatine ersetzt durch 1,5-proz. Agar-Agar.

3) Aeskulin-Gallensalz-Gelatine. Destilliertes Wasser 1000 ccm, Wittes Pepton 2 Proz., Natriumtaurocholat 0,5 Proz., Aeskulin 0,1 Proz., Eisencitrat 0,1 Proz., Gelatine 10 Proz.

4) Aeskulin-Gallensalz-Agar. Dieselben Bestandteile wie 3, nur ist die Gelatine ersetzt durch 1,5-proz. Agar-Agar.

In Tabelle III finden wir die diesbezüglichen Resultate. Die Agarplatten wurden bei 37° C kultiviert und nach 24 und 48 Stunden gezählt. Die Gelatineplatten wurden bei 20° C kultiviert und nach 48 und 72 Stunden gezählt.

(Siehe Tabelle III p. 770.)

Unter Kolonne 1 ist die Gesamtzahl der Bakterienkolonieen angegeben und unter 2 die Zahl der Coli-Kolonieen. Es ist sehr leicht, zu sehen, daß die Gelatineplatten hier nicht zuverlässig sind. Sie verflüssigen zu leicht, und für schwache Coli-Bakterien, wie wir sie in der Milch antreffen, ist eine Züchtungstemperatur von 20° C ohnedies zu niedrig. Wir haben daher nur die beiden Agarmethoden miteinander zu vergleichen. Wir finden, daß auf den Neutralrotplatten immer mehr Coli-Kolonieen gezählt werden, als auf den Aeskulinplatten, oder besser gesagt, die roten Kolonieen waren immer in der Mehrzahl gegenüber

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle III.

	Verd.	Neutralrot-Agar		Aeskulin-Agar		Neutralrot-Gelat.		Aeskulin-Gelatine	
		1	2	1	2	1	2	1	2
1	1/10	zuviel	6 700	320 000	2 640	36 000	1 200	—	3 000
	1/100	6 000 000	9 200	280 000	3 000	—	—	—	—
2	1/10	48 000	4 800	50 000	3 000	3 360	720	—	—
	1/100	132 000	6 000	132 000	3 500	13 000	500	—	—
3	1/100	4 000	3 000	2 200	700	18 000	—	2 000	200
	1/1000	4 000	1 000	2 000	—	2 000	—	3 000	—
4	1/100	—	—	600	—	1 700	600	1 100	100
	1/1000	—	—	—	—	8 000	—	1 000	—
5	1/100	1 600	500	600	100	800	—	500	—
	1/1000	—	—	2 000	—	1 000	—	1 000	—
6	1/10	zuviel	140	2 500	250	verflüss.	verflüss.	600	20
	1/100	12 000	1 400	3 500	300	3 000	—	800	100
7	1/10	zuviel	170	360	180	2 400	?	200	20
	1/100	20 000	200	400	200	6 000	?	500	—
8	1/10	zuviel	160	800	—	3 200	?	500	20
	1/100	10 000	?	1 000	—	6 000	300	600	—
9	1/50	18 000	?	12 000	900	verflüss.	verflüss.	1 200	100
	1/200	12 000	?	9 000	1 200	„	„	1 000	—
10	1/50	zuviel	1 000	30 000	600	„	„	3 000	—
	1/200	48 500	200	24 000	—	„	„	1 100	—
11	1/50	1 500	100	1 500	100	**Hier wurden die Gelatineproben aufgegeben, da die Platten immer in 24 Stunden verflüssigt waren.**			
	1/100	2 000	400	1 500	200				
12	1/50	5 000	50	2 000	300				
	1/100	6 000	—	2 800	200				
13	1/50	3 000	100	3 000	700				
	1/200	7 000	200	3 000	300				
14	1/50	zuviel	600	2 250	500				
	1/100	zuviel	500	4 000	1 800				
15	1/50	42 000	25 000	30 000	28 000				
	1/100	42 000	29 000	33 000	31 000				
16	1/50	15 000	50	750	—				
	1/100	18 000	—	200	—				
17	1/50	zuviel	400	1 000	300				
	1/100	zuviel	100	6 000	—				
18	1/50	24 000	2 700	2 000	1 000				
	1/100	24 000	2 500	3 000	2 700				
19	1/50	10 000	700	1 250	50				
	1/100	6 000	900	1 200	—				
20	1/50	—	—	45 000	—	—	—	45 000	300
	1/100	50 000	600	50 000	300	—	—	12 000	300
21	1/50	zuviel	1 000	zuviel	250	—	—	1 200	250
	1/100	zuviel	4 000	zuviel	—	—	—	3 000	600
22	1/50	zuviel	—	—	—	—	—	—	—
	1/100	zuviel	100	—	—	—	—	—	—
23	1/50	900	50	1 000	400	7 000	—	1 800	100
	1/100	1 000	—	500	—	3 000	—	100	—
24	1/50	zuviel	—	600	—	—	—	3 000	—
	1/100	zuviel	—	1 000	—	—	—	3 500	—
25	1/50	1 000	50	500	—	—	—	1 700	500
	1/100	900	100	600	—	—	—	1 800	500
26	1/50	1 000	—	600	—	—	—	200	—
	1/100	500	200	500	—	—	—	300	—
27	1/50	50	50	—	—	—	—	—	—
	1/100	600	100	—	—	—	—	—	—
28	1/50	500	50	—	—	—	—	—	—
	1/100	300	100	—	—	—	—	—	—
29	1/100	400	400	400	400	—	—	—	—
	1/100	400	300	200	200	—	—	—	—

schwarzen. Die Frage liegt jedoch nahe, ob jede rote Kolonie wirklich den Coli-Bacillus repräsentiert. Wir können direkt antworten, daß mehr als die Hälfte nichts mit der Coli-Gruppe zu tun hat, da es viele Bakterien gibt, welche auf Neutralrotagar rote Kolonieen bilden. Für die Askulinagarplatten können wir dieselbe Frage jedoch zustimmend beantworten. Ausgenommen einige Hefen und Pilze, welche auch schwarze Kolonieen bilden, jedoch sich sofort erkennen lassen, gehören alle schwarzen Kolonieen zu der Coli-Gruppe. Diese Tatsache wurde, wie folgt, bewiesen. Alle Kolonieen mehrerer Platten wurden auf Gelatinefleischextrakt verimpft und den folgenden Tag der Coli-Probe unterworfen, indem die Bakterien in Reagenzgläser mit den folgenden Nährböden gebracht wurden:

1) Milch mit Lackmus.
2) Destilliertes Wasser, 1 Proz. Laktose, 1 Proz. Pepton, Lackmus.
3) Destilliertes Wasser, 1 Proz. Glukose, 1 Proz. Pepton, Neutralrot.
4) Destilliertes Wasser, 0,5 Proz. Salz, 2 Proz. Pepton.

Die Kulturen wurden 3—5 Tage bei 38° C kultiviert und gaben folgendes Resultat:

Tabelle IV. Rote Kolonieen.

		Gelatine			Milch			Laktose Lackmus		Neutralrot		Indol
		Morphol.	Verflüss.	Beweglich	Säure	Koagul.	Gas	Säure	Gas	Fluor.	Gas	
1	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
3		+	+	+	—	—	+	—	+	—	+	+
4		—	+	+	—	—	+	—	+	+	—	+
5		—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
6	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
8		—	+	+	—	—	+	—	+	—	+	+
9		—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+
10		—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+
11	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+
12		—	—	+	—	—	+	—	+	+	+	+
13		—	—	+	+	—	—	+	—	—	—	+
14	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+
15		+	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+
16		+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18		+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	+
19	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20		—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+
21		—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	+
22	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
24		+	+	+	—	+	—	—	—	+	—	+
25		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
26	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28		+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+

Fassen wir die positiven Resultate zusammen, so haben wir nur 12 von 28 Proben, oder ungefähr 40 Proz.

Natürlich ist zwischen den Kolonieen ein merkbarer Unterschied, und so gelang es bald, die Kolonieen nach dem bloßen Aussehen einzuteilen. Im allgemeinen sind 5 verschiedene Typen vorhanden, und nur 2 davon geben positive Resultate bei der Coli-Probe. Diese Resultate sind folgende:

Tabelle V.

	Gesamtzahl	Gruppe 1	2	3	4	5
1	70	30	6	4	5	25
2	60	33	2	—	3	22
3	90	44	1	3	2	40
4	120	50	10	4	6	50
5	200	120	2	3	5	70
6	150	70	15	—	5	60
7	130	50	19	10	1	50
8	190	100	20	6	4	60
9	250	120	20	—	10	100
10	25	15	—	—	—	10
11	140	70	6	—	4	60
12	190	100	—	8	2	80
13	320	160	6	—	4	150
14	15	10	—	—	1	4
15	60	30	—	—	—	30
16	120	60	10	5	5	40
17	190	90	18	10	2	70
18	140	100	10	—	—	30
19	95	50	5	—	—	40
20	110	50	—	10	—	50
	2715	1352	150	63	59	1041

Die Typen 4 und 5 geben positive Resultate.

Nach dieser Tabelle gehören 41 Proz. der Kolonieen zu der Coli-Gruppe. Diese Experimente wurden nun auch mit den schwarzen Kolonieen ausgeführt.

(Siehe Tabelle VI p. 773.)

Die Kolonne 2 gibt an, ob es Bacillus coli (C) ist oder Bacillus aërogenes (A).

Diese Tabelle gibt uns viel bessere Resultate, und wir sind sicher, daß alle schwarzen Kolonieen zu der Coli-Gruppe gehören. Es gibt jedoch Bakterien, welche sich ein wenig braun färben, sie unterscheiden sich aber in genügender Weise von den schwarzen, so daß eine Verwechselung ausgeschlossen ist, überdies ist ihre Anzahl sehr gering.

(Siehe Tabelle VII p. 773.)

Wie schon vorher bemerkt, sind die Coli-Bacillen in der Milch nicht virulent, was erklärt, daß die Milch in vielen Proben nicht koagulierte.

Abgesehen von dem schon genannten Grunde, um das Aeskulin dem Neutralrot vorzuziehen, können wir noch viel wichtigere Belege für den Vorzug des Aeskulins beibringen. Bacillus cloacae Jordan von zwei verschiedenen Fundorten wurde nach beiden Methoden untersucht. Es ist genügend bekannt, daß dieses Bakterium nichts mit der Coli-Gruppe zu tun hat, jedoch in vielen Fällen dieselben Reaktionen gibt. Sie wurden

Tabelle VI.

Prüfung der schwarzen Kolonieen von Aeskulinagarplatten.

		Gelatine			Milch			Laktose Lackmus		Neutralrot		Indol
		Morphol.	Verflüss.	Beweglich	Säure	Koagul.	Gas	Säure	Gas	Fluor.	Gas	
1	A	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+
2	C	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
3	A	+	—	—	+	—	+	+	+	-	+	+
4	C	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
5	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
6	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
7	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
8	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
9	"	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	"	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	"	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	"	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	A	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
14	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
15	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
16	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
17	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
18	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
19	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
20	"	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
21	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	—	+
23	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	—	+
24	"	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
25	"	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle VII.

	Gesamtzahl	Braun	Schwarz
1	20	1	19
2	25	3	22
3	40	5	35
4	27	1	26
5	80	4	76
6	43	1	42
7	27	3	24
8	29	0	29
9	8	0	8
10	9	1	8

in Neutralrot-Gallensalznährböden geimpft und bei 37° C kultiviert; nach 24 Stunden war eine starke Gasbildung aufgetreten und die Flüssigkeit kanariengelb gefärbt, gerade wie bei einer virulenten Coli-Kolonie. Auf Neutralrot-Agarplatten waren die Kolonieen dunkelrot gefärbt. Es war wirklich unmöglich, sie vom Bacillus coli zu unterscheiden.

Auf Aeskulinagarplatten wuchsen die Kolonieen ausgezeichnet, jedoch blieb die schwarze Färbung aus, und auch in flüssigen Nährböden trat keine Verfärbung auf, so daß hier von einer Verwechselung mit

Coli und den genannten Bacillen nicht die Rede sein kann. Zur größeren Sicherheit wurden alle vorhandenen Bakterien mit Aeskulin untersucht. Die Resultate sind in folgender Tabelle untergebracht:

Tabelle VIII.

	schwarz
Wilde Hefe	—
Starke Torula-Milch	—
" " "	—
" " "	—
" " "	—
Verflüssigender B. aërogenes	—
B. aërogenes lactis	—
Russels Laktosehefe	—
Torula amara	—
B. coli communis	—
B. aërogenes-Milch	—
Brauereihefe	—
Destilleriehefe	—
	weiß
Schwache Torula-Milch	—
" " "	—
Kaseinbakterien	—
Lactobacillus	—
"	—
"	—
Braune Pigmentbakterienmilch	—
" "	—
Gelbe "	—
Ps. radicicola	—
B. fluorescens liquefaciens	—
Käsebakterien	—
Bakterien schleimiger Milch	—
" " "	—
B. lactis viscosis	—
" " " Adametz	—
B. Zopfii	—
Bakterien schleimiger Milch Marshall	—
B. Proteus vulgaris	—
B. mesentericus	—
B. subtilis	—
B. prodigiosus	—
Proteobacter-Bakterien	—
B. cloacae	—
" "	—

Schimmelpilze wurden nicht untersucht. Wir haben jedoch immer bemerkt, daß wenn eine Aeskulinplatte mit Schimmel infiziert war, ein schwarzes Feld gebildet wurde

Bis jetzt ist uns keine Bakterie bekannt, welche zu Verwechselungen Ursache geben kann. Wir sind daher der Meinung, daß die Aeskulinmethode nicht nur der gewöhnlichen Milchanalyse zugefügt werden, sondern diese im täglichen Gebrauch ganz verdrängen sollte.

Wir können bis jetzt keine äußere Grenze angeben, jedoch glauben wir, daß nicht mehr als 1 Proz. der totalen Bakterienzahl in Milch Coli sein sollte. Der Kontrollbeamte hat nur ein Muster zu nehmen, einige Kubikzentimeter in eine Aeskulinagarplatte zu bringen, 24 Stunden bei 37° zu kultivieren und die schwarzen Kolonieen zu zählen.

Die Anwendung von Aeskulin in flüssigen Nährböden.

Auch eine Zufügung von Aeskulin zu flüssigen Nährböden hat uns ausgezeichnete Resultate ergeben. Die Nährsubstrate waren, wie folgt, zusammengestellt:

A. 1000 ccm Wasser,
2 g Liebigs Fleischextrakt,
10 „ Pepton Witte,
0,5 „ Aeskulin,
0,5 „ Ferricitrat.
B. Dieselben Bestandteile wie A, nur 5 g Natriumtaurocholat zugefügt.

Ungefähr 8 ccm wurden in jedes Reagensglas gefüllt. Für gewöhnliche Milch haben wir hier eine viel feinere Prüfung für Coli, als auf die Platten. Die besten Erfolge bekommt man in einer Verdünnung von 1 Milch in 100 Wasser. Wir untersuchten 60 Proben in dieser Weise und fassen hier die Resultate zusammen:

Nährboden A. In Reagensglas und $^1/_{100}$ ccm Milch zugefügt.
- 45mal schwarz nach 24 Stunden; schwarze Kolonieen auf Aeskulinplatten nach 48 Stunden,
- 13mal schwarz nach 24 Stunden; schwarze Kolonieen auf Aeskulinplatten nach 120 Stunden,
- 2mal unverändert; nach 7 Tagen keine schwarzen Kolonieen auf den Aeskulinplatten.

Nährboden B.
- 12mal schwarz nach 24 Stunden; schwarze Kolonieen nach 24 Stunden auf den Aeskulinplatten,
- 16mal schwarz nach 48 Stunden; schwarze Kolonieen nach 48 Stunden auf den Aeskulinplatten,
- 30mal unverändert nach 48 Stunden; schwarze Kolonieen auf den Aeskulinplatten nach 120 Stunden,
- 2mal unverändert; nach 7 Tagen keine schwarzen Kolonieen auf den Aeskulinplatten.

Jedenfalls gibt Nährboden A alle Coli-Bakterien, sowohl schwache als starke; B gibt nur stark virulente Coli-Bakterien.

Auf den Platten wachsen alle Coli-Bakterien in einer Zeit von 24 Stunden bis 7 Tagen.

Schlußwort.

Wir haben in dieser Arbeit über verflüssigende Coli- und Aërogenes-Bakterien gesprochen, was nach der heutigen Auffassung unmöglich ist. Wir haben jedoch im letzten Jahre mehrmals Bakterien gefunden, welche sich von der Coli-Gruppe nur darin unterscheiden, daß sie die Gelatine verflüssigen, und wir fragen uns, ob eine Bakterie, welche nahezu alle Eigenschaften einer bestimmten Gruppe hat, unter einer anderen Gruppe untergebracht werden soll, zu welcher sie viel größere Differenzen zeigt. M. W. Beijerinck in Delft war der erste, der meinte, daß es Zeit sei, die engere Unterscheidung über Bord zu werfen, und wir folgen ihm darin mit Vergnügen, da es die einzige Art und Weise ist, zu einem besseren System zu gelangen.

Nachdruck verboten.

Studies in soil bacteriology. II.

Ammonification in soils and in solutions.

By **F. L. Stevens** and **W. A. Withers,**
assisted by
J. C. Temple and **W. A. Syme.**
[Contributed from the North Carolina Agricultural Experiment Station, West Raleigh, N. C., U. S. A.]

In an earlier article[1] we have called attention to the fact that inoculation of soils into solutions gives no adequate criterion of the nitrifying powers of soils, owing to the fact that some nitrifying soils fail entirely to nitrify in solutions, and that when in other cases nitrification occurs to some extent in each medium, the amount of nitrification in solutions is not commensurate with the amount of nitrification by the same soils as soils. The question naturally arises whether a similar condition does not exist regarding the process of ammonification.

Ammonification for the present purpose may be defined as the conversion of organic nitrogen into ammoniacal nitrogen. It is probably the most important of all the nitrogen transformations, and accurate knowledge of the conditions which favor it is of permanent importance.

The studies of ammonification which have been made, and they are very numerous and important, have been conducted by isolating organisms and studying the chemical transformations induced by such pure cultures in solutions of artificial composition, or by throwing in various ways, complexes of species in the form of small amounts of soils, or of suspensions derived from soils, into solutions for the purpose of study.

In view of the importance of the subject and in view of the doubts cast upon the validity of results arrived at by present methods of studying ammonification, a series of experiments was undertaken to ascertain whether reliable conclusions regarding the ammonifying power of a soil can be had by study of its effects when inoculated into solutions.

The bacteriological methods were similar to those described in our earlier paper with exception as to the form of nitrogen used[2] and may be so understood unless special description is given.

Chemical methods.

To 400 grams of soil were added 10 c. c. of chloroform and water sufficient with that already present in the soil to make 1200 c. c. and the mixture shaken for one hour. After settling somewhat the solution was filtered through a Pasteur-Chamberland filter. An aliquot part was taken. Nitrogen in the form of ammonia was liberated by magnesium oxide, caught in a standard acid solution and titrated with a standard alkaline solution.

When the amount of ammonia was very small is was Nesslerized instead of being titrated.

The amounts are expressed in terms of nitrogen.

---

[1] Stevens and Withers, Studies in soil soil bacteriology. I. Nitrification in soils and in solutions. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXIII. p. 355.

[2] Stevens and Withers, l. c.

Experiments.

Experiment No. 62 was designed to test the relative rapidity of ammonification in soils as compared with solutions. 240 milligrams of nitrogen as peptone, asparagin and cottonseed meal respectively were placed in 500 c. c. Erlenmeyer flasks, 400 c. c. of tap water was added to each and the whole autoclaved at 115° for 15 minutes, then inoculated with 1 c. c. of soil suspension from experiment No. 32 1) and allowed to stand 9 days.

240 milligrams of nitrogen as peptone, asparagin and cottonseed meal respectively were also mixed with 400 grams of soil No. 1866. The mixture was autoclaved as above and inoculated with 10 c. c. of soil suspension from experiment No. 32 in such a way as to be about two thirds saturated after inoculation and then allowed to stand 12 days. Analyses at the end of the period gave results indicated in table 1.

Table 1. Experiment 62.
Medium 400 grams, N 240 mgs. Dec. 12, 1907.
Showing a different intensity of ammonification in soils and in solutions.

Conditions						Results	
Sample number	Time of incubation	Medium	Inoculum		Initial nitrogen	Ammoniacal nitrogen recovered	
	Days	Kind	Kind	Quantity	Form	Per cent	Milligrams per 100 c. c. solution
1938	9	Water	Soil Suspension from Exp. 32	1 c. c.	Peptone	72.5 2)	43.5
1939	9	„		1 c. c.	Asparagin	100.0	60.0
1940	9	„	do.	1 c. c.	C. S. M. 3)	36.5	21.9
1955	12	(Sterile soil 1866)	do.	10 c. c.	Peptone	26.6	106.4
1956	12	do.	do.	10 c. c.	Asparagin	32.9	135.6
1957	12	do.	do.	10 c. c.	C. S. M.	23.1	92.4

It is seen here that though the soil culture received 10 times as large an inoculum, i. e. 10 times as many bacteria and stood 3 days longer, the ammonia produced in it from peptone was 36 % of that produced in solution, 33 % in the case of asparagin and 65 % in the case of cottonseed meal.

While the experiment does not admit of definite conclusions, because of the lack of parallelism in duration of the experiment and amount of inoculum, it certainly indicates very strongly that there is a great difference in the ammonifying power of this soil under the two conditions, i. e. 1) when inoculated into solution, 2) when inoculated into soil itself.

Experiment No. 63. This experiment was precisely like experiment No. 62 except that the inoculum was greenhouse soil, No. 1866.

The results are shown in table 2.

---

1) Stevens and Withers l. c.

2) The ammonia originally present was determined and found to be of negligable quantity.

3) C. S. M. signifies cottonseed meal.

Table 2. Experiment 63.
Medium 400 grams, N 240 mgs., Dec. 7, 1907.
Inoculum: suspension of soil 1866.
Showing a different intensity of ammonification in soils and in solutions.

Conditions					Results	
Sample number	Time of incubation	Medium	Inoculum	Initial nitrogen	Ammoniacal nitrogen recovered	
	Days	Kind	Quantity	Form	Per cent	Milligrams per 100 c. c. solution
1941	9	Water	1 gram	Peptone	79.1 1)	47.5
1942	9	„	1 „	Asparagin	78.1	46.9
1943	9	„	1 „	Cottonseed meal	39.8	23.9
1958	12	St. soil 1866	10 grams	Peptone	22.4	86.9
1959	12	„ „ „	10 „	Asparagin	28.7	114.8
1960	12	„ „ „	10 „	Cottonseed meal	17.5	70.0

Conditions similar to those found in the previous experiment are noted. Based upon the percent of ammonia found; peptone and asparagin are ammonified much more vigorously in solutions than in soil cultures; cottonseed meal likewise, but not with so marked a difference, there being 28 °/₀, 36 °/₀, 44 °/₀, as much ammonia produced in soil as in solution with peptone, asparagin, cottonseed meal respectively.

Experiment No. 88. 120 milligrams of nitrogen as cottonseed meal were weighed into 300 c. c. Erlenmeyer flasks, 200 c. c. of tap water added and the whole sterilized.

120 milligrams of nitrogen as cottonseed meal were also mixed with 200 grams of each soil to be tested, flasked and sterilized.

100 grams of the soil to be tested, were well shaken with 200 c. c. of water and 1 c. c. of the suspension was added to each flask of the solution. 1 c. c. of the suspension was also added to 20 c. c. of sterile water, mixed, and this diluted suspension was poured into the sterile soils in the flasks and thoroughly mixed. Soils Nos. 1667, 1867, 1783, 1784, 1931 and 2069 were tested in this manner thereby bringing into 200 grams of solution the same number of organisms and the same species of organisms as were mixed with 200 grams of the soil culture. This arrangement also provided that the organisms in soil media were in soils of the same quality as the soils from which these organisms were derived (identically the same soil except for sterilization). The cultures were incubated 7 days, then analyzed.

The results are given in table 3.

(See Table 3 p. 779.)

Here again, basing upon the percent of ammonia produced, there is a great difference in the intensity of ammonification in soils and in solutions. In five of the six samples of soil tested, ammonification was again greater in the solution than in the soil cultures, while in one instance ammonification was greater in the soil culture.

Not only is there a difference in rapidity and absolute quantity of ammonification, but the rank of the soils as ammonifiers is different according to whether their ammonifying powers are measured in soils or in solutions.

---

1) Original ammonia was of negligible amount.

Table 3. Experiment 88.

Medium 200 grams, N 120 mgs. as C. S. M. Time 7 days.
Comparing six different soils regarding ammonification in soil and solution.

Conditions			Results	
Sample number	Medium	Inoculum	Ammoniacal	Nitrogen recovered
	Kind	Suspension of soil	Per cent	Milligrams per 100 c. c. solution
2152	Solution	1667	18.2 1)	10.9
2153	Soil	1667	9.1	18.2
2154	Solution	1867	34.3	20.6
2155	Soil	1867	18.9	37.8
2156	Solution	1783	23.1	13.9
2157	Soil	1783	14.7	29.4
2158	Solution	1784	37.1	22.3
2159	Soil	1784	22.4	44.8
2160	Solution	1931	24.5	14.7
2161	Soil	1931	18.9	37.8
2162	Solution	2069	24.5	14.7
2163	Soil	2069	30.8	61.6

Compared in soil cultures their rank as ammonifiers is:	Soil No.	Compared in solution their rank is:
1.	2069	3.
2.	1784	1.
3.	1867	2.
3.	1931	3.
5.	1783	5.
6.	1667	6.

Experiment 82. To test relative ammonifying powers of various pure cultures in soil and in solution.

The tests above recited were made with soils, composites of bacterial species. It was deemed advisable to ascertain how far the conclusions indicated by these tests hold true when pure cultures of species are employed. To this end 15 pure cultures of ammonifying organisms were obtained from the most promising sources by plating from soils, cow manure, horse manure and from two labeled cultures from the laboratory stock. All of these pure cultures were inoculated into broth.

120 milligrams of nitrogen as cottonseed meal were weighed into each of sixteen 300 c. c. Erlenmeyer flasks and 200 c. c. of tap water added. An equal amount of cottonseed meal was mixed with 200 grams of soil in each of the sixteen flasks of the same size. All were autoclaved for one hour. Both soils and liquid media were inoculated with 1 c. c. of broth culture. To inoculate the soil flasks, tubes with 20 c. c. of sterile water were first inoculated with 1 c. c. of the broth culture and this dilution poured upon the soil and mixed with it. Ammonia was determined at the end of the fourth day. The results are given in table 4.

---

1) Original ammonia was of negligible amount.

Table 4. Experiment 82.

Medium 200 grams, inoculum 1 c. c., N 120 mgs. as C. S. M. Time 4 days.
March 16, 1908.

Comparing ammonification of pure cultures in soil and in solution.

Conditions			Results			
			Ammoniacal nitrogen recovered			
Sample number	Medium Kind	Inoculum Kind	Per cent	Difference in favor of soil	Milligrams per 100 c. c. solut.	Difference in favor of soil
2077	Sterile 1867	Organism 1	12.6	— 11.4	25.2	10.8
2078	Water	„ 1	24.0		14.4	
2079	Sterile 1867	„ 2	7.0	— 5.1	14.0	6.7
2080	Water	„ 2	12.1		7.3	
2081	Sterile 1867	B. subtilis	25.2	14.2	50.4	43.8
2082	Water	„ „	11.0		6.6	
2083	Sterile 1867	Organism 4	1.4	1.4	2.8	2.8
2084	Water	„ 4	0.0		0.0	
2085	Sterile 1867	„ 5	37.2	17.6	74.4	62.6
2086	Water	„ 5	19.6		11.8	
2087	Sterile 1867	„ 6	23.8	5.1	47.6	36.4
2088	Water	„ 6	18.7		11.2	
2089	Sterile 1867	B. mycoides	2.8	— 3.0	5.6	2.1
2090	Water	„ „	5.8		3.5	
2091	Sterile 1867	Organism 8	22.4	6.5	44.8	35.3
2092	Water	„ 8	15.9		9.5	
2093	Sterile 1867	„ 9	18.2	2.6	36.4	27.0
2094	Water	„ 9	15.6		9.4	
2095	Sterile 1867	„ 10	23.8	— 4.9	47.6	30.4
2096	Water	„ 10	28.7		17.2	
2097	Sterile 1867	„ 11	34.3	5.8	68.6	51.5
2098	Water	„ 11	28.5		17.1	
2099	Sterile 1867	„ 12	3.5	0.0	7.0	4.9
2100	Water	„ 12	3.5		2.1	
2101	Sterile 1867	„ 13	32.9	13.3	65.8	54.0
2102	Water	„ 13	19.6		11.8	
2103	Sterile 1867	„ 14	21.7	2.8	43.4	32.1
2104	Water	„ 14	18.9		11.3	
2105	Sterile 1867	„ 15	9.8	6.8	19.6	17.8
2106	Water	„ 15	3.0		1.8	
2107	Sterile 1867	Soil susp. 1867	27.3	10.5	54.6	44.5
2108	Water	„ „ 1867	16.8		10.1	

Here, basing on percent of ammonia, ammonification was greater in soils than in solutions in the large majority of cases. In only three instances, was ammonification greater in solutions than in soils. Basing upon amount converted per cubic centimeter of solution, the ammonification was greater in soil in every instance. Basing upon percent converted the rank in ammonifying power is as follows:

Rank teste in soils	Rank teste in solution	Source of organism
1. 2085 (6)1)	4.	Horse manure
2. 2097 (8)	2.	„ „
3. 2101 (2)	4.	Soil
4. 2107 (8)	8.	Cow manure
5. 2081 (2)	12.	Soil
6. 2087 (8)	7.	Cow manure
6. 2095 (6)	1.	Manure
8. 2091 (2)	9.	Soil
9. 2103 (4)	6.	„
10. 2093 (4)	10.	„
11. 2077 (8)	3.	B. subtilis-culture
12. 2105 (6)	15.	Soil
13. 2079 (80)	11.	B. mycoides-culture
14. 2099 (00)	14.	Horse manure
15. 2089 (90)	13.	Cow „
16. 2083 (4)	16.	„ „

(See Table 5 p. 782, 783.)

5 species hold the same rank in soil and solution; 2 have changed one rank, 2 two ranks, 4 three ranks, 1 five, 1 six and 1 seven ranks; some assuming a higher rank in soils, others higher in solutions.

It is seen from the tabulation that not only is the absolute ammonifying power different in the two media but also that the rank of the organisms as ammonifiers is greatly altered by the mode of test 2).

Experiment 105, May 25, 1908. To further test the same point, whether tests made in solutions are fair criteria by which to judge either the absolute or relative ammonifying power of soils, experiments Nos. 105, 200 and 201 were made.

In these experiments the cultures were all made in duplicate and with checks. Four soils were used and with each the ammonifying power was tested in three ways:

1. By inoculation of a suspension into a sterile mixture of cottonseed meal and water (i. e. solution condition).
2. By inoculation of a suspension into sterile soils.
3. By adding the nitrogenous material directly to the live soil. The cultures were kept 10 days, then analyzed.

The results are given in table 5, and summarized in table 6.

(See Table 6 p. 783.)

It is seen here that at the end of 4 days soils Nos. 1931 and 2069 ammonified most vigorously in natural condition. next in sterile soil + suspension and least in the watery suspension: Nos. 1784 and 1667 most in watery suspension. It appears then that some soils will give a maximum test of ammonifying power in the liquid medium, others in the soil medium; that the test made in the liquid is not a fair criterion of ammonifying power. Though the discrepancies are not so great as in the case with the phenomenon of nitrification, they are sufficient to change the rank of soils in ammonifying power, as for example, in the above case where soil 1931 ammonified more than three times as rapidly in soil as in solution as did also soil 2069; while soil 1784 ammonified a

---

1) Parentheses show termination of number of corresponding soil tested in solution.

2) While the analyses of all samples were not completed on the same day, the analyses of all cultures inoculated with the same soil were made at the same time. Therefore while the actual rank of these cultures as ammonifiers is not given here, the general conclusion drawn is legitimate.

Table 5. Experiments 105, 201.

Medium 200 g, inoculum 1 c. c., N 120 mgs. as C. S. M. May 25, 1908.
Showing ammonification in soils and in solutions.

Conditions				Results			
		Medium	Inoculum	Ammoniacal nitrogen recovered			
Sample number	Time of incubat. days	Kind	Kind	Per cent	Net	Milligrams per 100 c. c. solution	Net
2285	10	Water	Suspension 1784	29.00		17.4	
2286	10	"	" "	29.40		17.6	
aver.				29.20		17.5	
2287	10	"	—	2.34	26.86	1.4	16.1
2288	10	Sterile soil	Suspension 1784	21.01		84.0	
2289	10	" "	" "	22.40		89.6	
aver.				21.31		85.2	
2290	10	" "	—	2.10	19.21	8.4	76.8
2291	10	Live soil 1784	—	22.40		89.6	
2292	10	" " "	—	23.10		92.4	
aver.				22.75		91.0	
2293	10	Sterile soil 1784	—	1.40	21.35	5.6	85.4
2294	10	Water	Suspension 1667	26.20		15.7	
2295	10	"	" "	27.10		16.3	
aver.				26.65		16.0	
2287	10	"	—	2.34	24.31	1.4	14.6
2296	10	Sterile soil 1784	Suspension 1667	9.80		39.2	
2297	10	" " "	" "	12.60		50.4	
aver.				11.20		44.8	
2298	10	" " "	—	0.00	11.20	0.0	44.8
2299	10	Live soil 1667	—	0.70		2.8	
2300	10	" " "	—	17.50		70.0	
aver.				9.10		36.4	
2301	10	Sterile soil 1667	—	0.00	9.10	0.0	36.4
2372	4	C. S. M. + H_2O	Suspension 2069	11.20			
2373	4	do.	" "	9.10			
aver.				10.15	8.98	6.1	5.4
2374	4	do.	—	1.17		0.7	
2375	4	Sterile soil 1867	Suspension 2069	23.81			
2376	4	" " "	" "	23.11			
aver.			—	23.46	18.56	46.9	37.1
2377	4	" " "	—	4.90		9.8	
2378	7	Live soil 2069	—	32.21			
2379	7	" " "	—	30.11			
aver.				31.16	27.66	72.0	63.9
2380	7	Sterile soil 2069	—	3.50		8.1	
2390	7	C. S. M. + H_2O	Suspension 2069	14.24			
2391	7	do.	" "	23.57			
aver.			—	18.91	18.21	11.3	10.9
2392	7	do.	—	0.70		0.4	
2393	7	Sterile soil 1867	Suspension 2069	28.01			
2394	7	" " "	" "	24.51			
aver.				26.26	23.46	52.5	46.9
2395	7	" " "	—	2.80		5.6	
2396	7	Live soil 2069	—	32.91		81.7	73.6
2397	7	" " "	—	37.81		8.1	
aver.				35.36	31.86		
2380	4	Sterile soil 2069	—	3.50			

Table 5 continued. Experiment 200. July 30, 1908.

Conditions				Results			
				Ammoniacal nitrogen recovered			
Sample number	Time of incubat. days	Medium Kind	Inoculum Kind	Per cent	Net	Milligrams per 100 c. c. solution	Net
2363	4	C. S. M. + water	Soil suspension 1931	6.77			
2364	4	do.	” ” ”	9.10	7.24	4.8	4.3
aver.				7.94		0.5	
2365	4	do.	—	0.70			
2366	4	Sterile soil 1867	Soil suspension 1931	25.21			
2367	4	” ” ”	” ” ”	23.81	17.51	45.0	35.0
aver.				24.51		10.0	
2368	4	” ” ”	—	7.00			
2369	4	Live soil 1931	—	24.51			
2370	4	” ” ”	—	26.60	23.46	54.7	50.2
aver.				25.56		4.5	
2371	4	Sterile soil 1931	—	2.10			
2381	7	C. S. M. + water	Soil suspension 1931	4.43			
2382	7	do.	” ” ”	13.07	8.05	5.3	4.8
aver.				8.75		0.5	
2383	7	do.	—	0.70			
2384	7	Sterile soil 1867	Soil suspension 1931	28.70			
2385	7	” ” ”	” ” ”	28.70	23.10	57.4	46.2
aver.				28.70		11.2	
2386	7	” ” ”	—	5.60			
2387	7	Live soil 1931	—	24.50			
2388	7	” ” ”	—	22.41	22.06	50.2	47.2
aver.				23.46		3.0	
2389	7	Sterile soil 1931	—	1.40			

Table 6. Summary of table 5.

Nos. 105, 200, 201, N. 120 mgs as C. S. M.

Medium	Soil inoculum	Days	Net nitrogen as ammonia	Days	Net nitrogen as ammonia
CSM and H_2O	1931	4	7.24 %	7	8.05 %
Sterile soil 1867	1931	4	17.51 „	7	23.10 „
Live 1931		4	23.46 „	7	22.06 „
CSM and H_2O	2069	4	8.98 „	7	18.21 „
Sterile 1867	2069	4	18.56 „	7	23.46 „
Live 2069		4	27.66 „		31.86 „
CSM and H_2O	1784	10	26.86 „		
Sterile 1784	1784	10	19.21 „		
Live 1784		10	21.35 „		
CSM and H_2O	1667	10	24.32 „		
Sterile 1784	1667	10	11.20 „		
Live 1867			9.10 „		

trifle better in solution than in soil. It is apparent that a proper comparison of the actual field ammonifying power of these three soils could not be had by comparing their ammonifying power in solutions. It is to be noted also that in the original data from which these conclusions are drawn determinations were made in duplicate with control cultures and for the most part with excellent agreement between duplicates.

Experiment 209. Aug. 20. 1908. An experiment similar to the preceding was also made with pure culture of several laboratory species and of three "wild" forms, Nos. 5, 7 and 11 isolated from various sources.

To inoculate, 1 c. c. of a 48 hour old broth culture was added to 20 c. c. of sterile water and poured into the soil flask or into the liquid culture, all in strictly parallel manner. The results are presented in table 7.

Table 7.

Test of pure cultures for ammonification in soil and in solution. August 20, 1908. Time, 7 days. Initial nitrogen 120 mg as C. S. M. Inoculum 1 c. c. of 48 hour broth cultures.

Sample number	Conditions			Results							
	Medium		Inoculum	Ammoniacal Nitrogen recovered							
	Kind	Amount in c.c.	Kind	Per cent				Milligrams per 100 c.c. sol.			
				Found	Average	Excess in favor of soil	Excess in favor of solut.	Found	Average	Excess in favor of soil	Excess in favor of solut.
2437	Sterile 1867	200	B. subtilis	16.84	16,14	3.91		33.7	32.3	7.8	
2438	„ 1867	200	„ „	15.44				30.9			
2439	Water	60	„ „	11.41	12.23			22.8	24.5		
2440	„	60	„ „	13.05				26.1			
2441	Sterile 1867	200	B. mycoides	8.42	7.72	6.22		16.8	15.4	12.4	
2442	„ 1867	200	„ „	7.02				14.0			
2443	Water	60	„ „	0.52	1.50			1.0	3.0		
2444	„	60	„ „	2.48				5.0			
2445	Sterile 1867	200	B. megatherium	14.38	14.21	9.54		28.8	28.4	19.0	
2446	„ 1867	200	„ „	4.04				28.1			
2447	Water	60	„ „	4.21	4.68			8.4	9.4		
2448	„	60	„ „	5.14				10.3			
2449	Sterile 1867	200	Organism 5	8.03	7.26	6.77		16.1	14.5	13.5	
2450	„ 1867	200	„ 5	6.49				13.3			
2451	Water	60	„ 5	0.37	0.49			0.7	1.0		
2452	„	60	„ 5	0.61				1.2			
2453	Sterile 1867	200	„ 7	11.16	10.85		14.87	22.3	21.7		29.7
2454	„ 1867	200	„ 7	10.53				21.1			
2455	Water	60	„ 7	25.27	25.72				51.4		
2456	„	60	„ 7	26.16							
2457	Sterile 1867	200	„ 11	12.63	11.56		13.15	25.3	23.1		26.3
2458	„ 1867	200	„ 11	10.49				21.0			
2459	Water	60	„ 11	24.28	24.71			48.6	49.4		
2460	„	60	„ 11	25.13				50.3			

As with the composite inoculations of the last experiment some species are seen to ammonify more vigorously in solutions other species in soils.

Organism No. 5 produced less than 7 % as much ammonia in solution as in soil; B. megatherium 32 %; B. mycoides 19 %. While organism No. 7 produced only 42 % as much ammonia in soil as in solution organism No. 11 gave 46 %.

Ranking the organisms according to their ammonifying power in solution we have; No. 7, No. 11, subtilis, megatherium, mycoides, No. 5; in soil, subtilis, megatherium, No. 11, No. 7, mycoides, No. 5.

Thus it is seen that neither the absolute nor the relative ammonifying power of these organisms for soils can be ascertained by testing them in solutions.

Summary and Conclusions.

1. Some bacterial soil complexes ammonify faster in solutions.
2. Some bacterial soil complexes ammonify faster in soils.
3. Some pure cultures of organisms ammonify faster in soils, others faster in solutions.
4. The rank of soils, bacterial soil complexes, or of pure cultures is different as measured in soils or in solutions.

The general conclusion stands out clearly as it did regarding nitrification that neither for soils nor pure cultures of organisms can the ammonifying power be adequately determined by testing in solutions; that not even the relative ammonifying power of two soils or two organisms can be determined with certainty by the method of testing in solutions. While there is not so great a discrepancy between results by the solution and the soil method as regards ammonification as obtains regarding nitrification still the discrepancy is sufficient to necessitate using soil as the medium in which to test ammonifying powers in cases where any degree of accuracy is desired and to check all determinations by soil cultures.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Ducomet, V., Pathologia vegetale. Paris 1908. 300 p. 8°. M. Fig.

Hiltner, Vorläufiger Bericht über die Tätigkeit der K. Agrikultur-botanischen Anstalt im Jahre 1908. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VII. 1909. Heft 1. p. 1—2.)

Jackzewski, A. A., Dritter Jahresbericht (1907) über die Krankheiten und Beschädigungen der Kultur- und wildwachsenden Pflanzen. St. Petersburg 1908. 206 p. 8°. [Russisch.] M. Fig.

Lemmermann, O., Fischer, H., Kappen, H. und **Blanck, E.**, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen. (Mitt. d. agrikult.-chem. Versuchsstation Berlin. — Landwirtsch. Jahrbücher. Bd. XXXVIII. 1909. Heft 2. p. 319—364.)

Scheremetjew, E., Illustrierte Beschreibung der Pilzarten Mittelrußlands. 1. Hymenomycetineae. (Russisch.) Riga 1908. 145 p. M. Fig.

Tower, W. V., Report of the Entomologist and plant pathologist. (Ann. rep. Puerto Rico agr. exp. stat. 1907. p. 31—38.)

Zimmermann, Bericht der Hauptsammelstelle Rostock für Pflanzenschutz in den Gebieten Mecklenburg-Schwerin und Mecklenburg-Strelitz im Jahre 1908. (Landw. Annalen d. mecklenb. patriot. Ver. N. F. Jg. XLVIII. 1909. N. 7. p. 50—53; N. 8. p. 58—61.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Caulfeild, Alfred H., Modified form of flask for fluid media. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 3. p. 463—464. 1 Fig.)

Gandolfi, Herzog, Ueber eine kombinierte Einbettungsmethode. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 421—422.)

Heidenhain, Martin, Ueber die Haltbarkeit mikroskopischer Präparate, insbesondere über die Nachbehandlung jodierter Gewebe mit Natriumthiosulfit. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 397—400.)

—, Ueber Vanadiumhämatoxylin, Pikroblauschwarz und Kongo-Korinth. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 401—412.)

Heusner, Hans L., Ein einfaches Hilfsstativ für Vertikalaufnahme makro- und mikroskopischer Objekte. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 432—433. 1 Fig.)

v. Ignatowsky, W., Eine Beleuchtungseinrichtung für das Metallmikrosk. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 434—438. 3 Fig.)

Materna, Loys, Ein neuer Vakuum-Paraffinofen. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 339—445. 2 Fig.)

Scheffer, W., Einiges über das Arbeiten mit dem Paraboloid-Kondensor. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 446—450.)

Siedentopf, H., Die Sichtbarmachung von Kanten im mikroskopischen Bilde. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 424—431. 1 Taf. u. 2 Fig.)

Wehmer, C., Nachweis des Hausschwammes (Merulius) auf kulturellem Wege. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. 1909. N. 18/23. p. 652—654.)

Wolff-Eisner, A., Ein neuer leistungsfähiger Schüttelapparat in Verbindung mit einem Thermostaten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 5. p. 654—656. 3 Fig.)

Wunderer, Hans, Einige Verwendungsarten von Gaslicht-Papieren und -Platten. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 4. p. 450—451.)

Systematik, Morphologie.

Amato, Alessandro, Ueber die feine Struktur der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1909. Heft 4. p. 385—393. 2 Taf.)

Anastasia, G. E., Insetti nocivi al tabacco. (Boll. tecnico d. coltivaz. dei tabacchi. Anno VII. 1908. N. 3/4. 1 Taf.)

Anderson, J. P., Iowa Erisyphaceae. (Proc. Iowa Acad. Sc. Vol. XIV. 1908. p. 15—46. 3 Taf.)

Austen, Ernest E., New Genera and Species of Blood-sucking Muscidae from the Ethiopian and Oriental Regions in the British Museum (Nat. Hist.). (Ann. and Mag. of nat. Hist. Ser. 8. Vol. III. 1909. N. 15. p. 285—299. 3 Fig.)

Baudon, A., Etude sur les parasites ayant attaqué les produits présentés à l'Exposition coloniale de Marseille (Coléoptères, Microlépidoptères). (Ann. Fac. Sc. Marseille). Marseille 1909. 26 p. 4°. 3 M.

Berlese, A. e **Leonardi, G.,** Chermotheca Italica continens exsiccata, in situ, Coccidarum plantis, praecipue cultis, in Italia occurrentibus, obnoxiarum. Cocciniglie raccolta in Italia. 125 specie e varietà exsiccate di Cocciniglie in situ, sull' organo della pianta su cui sono state raccolte, con testo. — Fasc. 4 (n. 76—100). In cartolajo. Portici 1908. 5 Fascicoli. ogni fasc. 10 M.

Börner, Carl, Zur Biologie und Systematik der Chermesiden. (Biol. Centralbl. Bd. XXIX. 1909. N. 4. p. 118—125.)

Bubák, Fr., Ein kleiner Beitrag zur Pilzflora von Niederösterreich. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 59—62.)

Burri, R. und **Düggeli, M.,** Beiträge zur Systematik der Coli-aërogenes-Gruppe, nebst Beschreibung einer neuen Methode zur Untersuchung der Gärungsgase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 2. p. 145—174.)

Cano, U., Untersuchungen über die Verbreitung der ultramikroskopischen Keime in der Natur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 1. p. 78—79.)

Dobell, C. Clifford, Some observations on the Infusoria parasitic in Cephalopoden. (Quart. Journ. of microsc. Sc. N. Ser. Vol. LIII. P. 2. 1909. N. 210. p. 183—200. 1 Taf.)

—, Researches on the intestinal Protozoa of Frags and Toads. (Quart. Journ. of microsc. Soc. N. S. N. 210. Vol. LIII. P. 2. 1909. p. 201—277. 4 Taf. u. 1 Fig.)

—, Some notes on the haemogregarines parasitic in snakes. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 288—295. 1 Taf.)

Dufour, L., Note sur la classification des Basidiomycètes. (Rev. gén. bot. T. XX. 1908. p. 417—429.)

Eisenberg, Philipp, Studien zur Ektoplasmatheorie. 2. Teil. Ueber das Ektoplasma und seine Veränderungen im infizierten Tier. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 4. p. 465—492. 4 Taf.)

Erichsen, F., Eine neue Flechte: Cyphelium (Acolium) verrucosum Erichsen. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 4. p. 210—211.)

Fautham, H. B., The Schizogregarines: a review and a new classification. (Parasitology. Vol. I. 1908. 4. p. 369—412. 9 Fig.)

Ferraris, Teodoro, Osservazioni sulla morfologia dell' Oidio delle quercie. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 62—73. 1 Taf.)

Galli-Valerio, B. und **de Jongh, J. Rochas,** Boobachtungen über Culiciden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 4. p. 553—558. 1 Fig.)

Gendre, E., Sur deux larves carnassières de moustiques. (Bull. de la soc. pathol. exotique. Année II. 1909. N. 3. p. 147—150.)

Jägerskiöld, L. A., Zur Kenntnis der Nematoden-Gattungen Eustrongylides und Hystrichis. Upsala 1909. 49 p. 5 Taf. u. 12 Fig. (Aus Acta nova soc. scient. Upsaliensis Ser. 4. Vol. II.)

v. Kirchner, O., Die Rebenfeinde, ihre Erkennung und Bekämpfung. Gemeinverständlich dargestellt. 2. Aufl. Stuttgart (Ulmer) 1909. IV, 43 p. 8⁰. 71 kolor. Fig. 2 M.

Kurita, Sh., Ueber den Brustseuchebacillus des Kaninchens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 4. p. 508—510.)

Kusano, S., Notes on Japanese Fungi. 5. Puccinia on the leaves of Bambuseae. (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VIII. 1908. N. 1. p. 37—50. 1 Taf. u. 1 Fig.)

—, Further studies on Aeginetia indica. (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VIII. 1908. N. 1. p. 59—78. 1 Taf.)

Mariani, G., Contributo alla cecidologia italica. (Marcellia. T. VI. 1908. p. 62—67.)

Metcalf, Maynard M., Opalina. Its anatomy and reproduction, with a description of infection experiments and a chronological review of the literature. (Arch. f. Protistenk. Bd. XIII. 1908. Heft 3. p. 195—375. 5 Taf. u. 17 Fig.)

Neumann, L. G., Parasites et maladies parasitaires des oiseaux domestiques. Paris 1908. 230 p. 8⁰. 89 Fig. 2,50 M.

Nuttall, George H. F. and **Strickland, Cyril,** On the presence of an anticoagulin in the salivary glands and intestines of Argas persicus. (Parasitology. Vol. I. 1909. N. 4. p. 302—310.)

Nuttall, G. H. F., Cooper, W. F. and **Robinson, L. E.,** On the structure of the spiracles of a tick-Haemaphysales punctata, Canestreni and Fanzago. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 347—351. 2 Taf.)

Okajima, G., Contributions to the study of Japanese Aphididae. 1. On the structure of the Antennae of Aphididae. (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VIII. 1908. N. 1. p. 13—26. 2 Taf.)

Parsons, Allan C., Filaria volvulus Leuckart, its distribution, structure and pathological effects. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 359—368. 1 Fig.)

Patton, W. S. and **Strickland, C.,** A critical review of the relation of blood sucking invertebrates to the life cycles of the trypanosomes of vertebrates, with a note on occurrence of a species of Crithidia, C. Aenophthalmi, in the alimentary tract of Ctenophthalmus agyrtes, Heller. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 322—346.)

Patton, W. S., The Haemogregarines of mammals and reptiles. (Parasitology. Vol. I. 1909. N. 4. p. 318—321.)

Sambon, Louis W., What is „Schistosoma Mansoni" Sambon 1907? (Journ. of trop. med. and hyg. Vol. XII. 1909. N. 1. p. 1—11. 6 Fig.)

—, The haemogregarines of snakes. (Forts.) (Journ. of trop. med. and hyg. Vol. XII. 1909. N. 2. p. 22—24; N. 3. p. 38—41; N. 4. p. 35—48; N. 5. p. 70—74. 44 Fig.)

—, Remarks on the avian haemoprotozoa of the Genus Leucocytozoon. (Journ. of trop. med. and hyg. Vol. XII. 1909. N. 3. p. 37—38. M. Fig.)

Schorstein, J., Die holzzerstörenden Pilze. [Vortrag.] (Ztschr. Oesterr. Ingen. Architekt.-Ver. Wien 1908. N. 45/46. 7 p.)

Shipley, A. E., Pearls and parasites (and other essay). London 1908. XV, 232 p. 7 Taf. 8⁰. 7,50 M.

Speiser, P., Ektoparasiten des Fregattvogels. (Deutsche Südpolar-Expedition 1901—03. Bd. X. Zool. Bd. II. Heft 4.

de Stefani-Perez, T., Una nuova interessante cecidomyia. (Marcellia. Vol. VI. 1908. p. 174—176.)

—, Nuova cecidomide galligena. (Marcellia. Vol. VI. 1908. p. 108—109.)

Swellengrebel, N. H., Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochäten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1908. Heft 4. p. 529—550. 2 Taf. u. 4 Fig.)

Theissen, F., Xylariaceae austro-brasilienses. 2. Teil. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 1—18.)

Torrend, C., Catalogue raisonné des Myxomycètes du Portugal. (Bull. de la soc. Portugaise des sc. nat. Vol. II. 1908. Fasc. 1/2. p. 55—73.)

Trotter, A., Nuovi zoocecidii della flora italiana 7. (Marcellia. Anno VI. 1908. p. 102—107.)

—, Illustrazione di alcune galle cinesi provenienti dallo Sheu-si settentrionale. (Marcellia. Anno VII. 1908. p. 80.)

Torrend, C., Les Myxomycètes; études des espèces connues jusqu'ici Broteria. Vol. VII. Lisboa 1908. 177 p. 9 Taf. 7 M.

Wegner, Die Biesfliege des Rindes Hannovers. (Land- u. Forstw. Ztg. Jg. LXII. 1909. N. 10. p. 228—230.)

Wenton, C. M., A Trypanosome and Haemogregarine of a tropical american snake. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 314—317. 1 Taf.)

Biologie.

Blanchetière, A. et **Gougerot,** Actions chimiques produites par le Sporotrichum Beurmanni. (Compt. rend. soc. biol. T. LXVI. 1909. N. 5. p. 202—204.)

Clerc, A. et **Sartory, A.,** Etude biologique d'un Coccus rouge se rapprochant du Micrococcus cinnabareus (Flügge). (Compt. rend. soc. biol. T. LXVI. 1908. N. 1. p. 20—22.)

Duval, Charles M. and **Todd, John L.,** A note on the cultivation of Spirochaeta Duttoni. (Lancet. 1909. Vol. I. N. 12. p. 834—835.)

Frégonneau, Karl, Ueber die Wirkung von Bakterien auf Azofarbstoffe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 2. p. 276—280.)

Gerlach und **Vogel,** Versuche über die Impfung von Leguminosen mit Knöllchenbakterien. (Mitt. d. K. Wilhelms-Inst. f. Landw. in Bromberg. Bd. I. 1909. Heft 2. p. 123—151.)

Guéguen, Fernand, Sur la culture et la biologie du Xylaria polymorpha Grev. (Compt. rend. soc. biol. T. LXVI. 1909. N. 3. p. 124—125.)

Gutzeit, E., Die Gärungsprozesse bei der Einsäuerung von Hackfrüchten. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXVI. 1909 N. 4. p. 36. [Mitt. d. Dtschn. Landw.-Ges.].)

Hallez, Paul, Biologie, organisation et embryologie d'un Rhabdocoele parasite du Cardium edule L. Paravortex cardii n. sp. (Arch. de Zool. expér. et gén. Sér. 4. T. IX. 1909. p. 429—544.)

Hecke, L., Der Einfluß von Sorte und Temperatur auf den Steinbrandbefall. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. XII. 1909. Heft 2. p. 49—66. 1 Taf.)

Herzog, R. O. und **Meier, A.,** Ueber Oxydation durch Schimmelpilze. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. LVII. 1908. p. 35—42.)

Herzog, R. O. und **Ripke, O.,** Notiz über die Umwandlung von Zimmtsäure in Styrol durch Schimmelpilze. (Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. LVII. 1908. p. 43—45.)

Jaloustre, L., Recherche de l'arginase chez l'Aspergillus niger. Thèse de Paris 1908. 8⁰.

Kleine, Positive Infektionsversuche mit Trypanosoma Brucei durch Glossina palpalis. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXV. 1909. N. 11. p. 469—470.)

Krieg, W., Ueber die Ursachen der Spezialisation und die Entstehung des Wirtswechsels bei den Uredineen. (Naturw. Wchnschr. N. F. Bd. VII. 1908. p. 561—573.)

Kürchhoff, E., Die Tsetse und ihre verheerende Tätigkeit. (Naturw. Wchnschr. Bd. XXIV. 1909. N. 10. p. 145—153.)

Kusano, S., Biology of the Chrysanthemum rust. (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VIII. 1908. N. 1. p. 27—36. 1 Fig.)

—, On the parasitism of Siphonostegia (Rhinantheae). (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VIII. N. 1. p. 51—57. 5 Fig.)

Lebour, Marie V., A contribution to the life history of Echinostomum secundum Nicoll. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 352—358.)

Lendner, A., Les Mucorinées de la Suisse. Berne (Matériaux pour la flore cryptogamique Suisse) 1908. 182 p. 3 Taf. u. 59 Fig. 6 M.

Löckermann, K., Die Entwickelung der Theorie der alkoholischen Gärung. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XXI. 1909. N. 2. p. 20—24.)

Marzinowsky, E. J., Ueber die Züchtung von Piroplasma equi. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LXII. 1909. Heft 3. p. 417—422. 1 Taf.)

Meyer, Arthur, Bemerkungen über Aërobiose und Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 3. p. 305—316.)

Mordwilko, Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae Passerini. [Forts.] (Biol. Centralbl. Bd. XXIX. 1909. N. 4. p. 97—118.)

—, Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae Passerini. Die zyklische Fortpflanzung der Pflanzenläuse. (Schluß.) (Biol. Centralbl. Bd. XXIX. 1909. N. 6. p. 164—182.)

Morstatt, H., Ueber das Vorkommen von Gloeosporium fagicolum in Deutschland. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 45—48. 3 Fig.)

Nicoll, William, Notes on Larval Trematodes. (Ann. and Mag. of nat. Hist. Ser. 8. Vol. III. 1909. N. 15. p. 237—246. 2 Fig.)

Nuttall, George H. F., The transmission of Trypanosoma lewisi by fleas and lice. (Parasitology. Vol. I. 1908. N. 4. p. 296—301.)

Reidemeister, W., Die Bedingungen der Sklerotien- und Sklerotienringbildung von Botrytis cinerea auf künstlichen Nährböden. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 19—44. 3 Fig.)

Slator, A., The factors which influence the rate of alcoholic fermentation. (Pharmacol. Journ. Vol. LXXXI. 1908. p. 400. — Chem. News. Vol. XCVIII. 1908. p. 175.)

Signer, M., La vitalità di alcuni microorganismi nelle carni insaccate. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIX. 1909. Fasc. 1. p. 51—58.)

Stokvis, C. S., Alkohol- und Essigsäuretoleranz der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1909. Heft 4. p. 436—444.)

Swingle, Leroy D., A study on the life history of a flagellate (Crithidia melophagi n. sp.) in the alimentary tract of the sheep-tick (Melophagus ovinus). (Journ. of infect. dis. Vol. VI. 1909. N. 1. p. 98—121. 3 Taf.)

Vincent, H., La détermination bactériologique et le dosage du Bacillus coli dans l'eau de boisson. (L'hyg. gén. et appliquée. Année IV. 1909. N. 2. p. 74—84.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Dannehl, H., Statistik über den Keimgehalt des Wassers der Göttinger Wasseranlagen in den Jahren 1898—1906. Diss. med. Göttingen 1909. 8°.

Didier, L'épuration des eaux d'égout. (Ann. d. hyg. publ. et de méd. lég. Sér. 4. T. XI. 1909. p. 132—154.)

Munro, D., Ozon as a water purifying agent in India. (Indian med. Gaz. Vol. XLIV. 1909. N. 2. p. 48—51.)

Stooff, Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle. (Journ. f. Gasbeleucht. u. Wasserversorg. Jg. LII. 1909. N. 8. p. 170—173.)

Vogel und **Zeller**, Beiträge zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Mitt. d. K. Wilhelms-Inst. f. Landw. in Bromberg. Bd. I. 1909. Heft 2. p. 167—206.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Picker, M., Ueber die Bedeutung indifferenter Stoffe bei der Salizylkonservierung. (Arch. f. Hyg. Bd. XIX. 1909. Heft 1. p. 54—70.)

Utz, Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel mit Einschluß der Fette und Oele im Jahre 1908. (Oesterr. Chemiker-Ztg. Jg. XII. 1909. N. 5. p. 59—62.)

Fleisch.

Böhm, Jos., Grundzüge der Trichinenschau. Zusammengestellt für den Unterricht und die Prüfungen. Nebst Anhang: Gutachten über die Notwendigkeit und Zuverlässigkeit der Trichinenschau. Stuttgart (Enke) 1909. VII, 80 p. 8°. 9 Taf. 2 M.

Wein, Weinbereitung.

dal Piaz, Das Bitterwerden der Rotweine. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXVI. 1909. N. 11. p. 103—104.)

Das Lang- oder Zähewerden der Weine. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXVI. 1909. N. 9. p. 81—82.)

Milch, Molkerei.

Danils, O., Versuche mit Salpeter bei der Herstellung von großlöcherigem Käse. (Milch-Ztg. Jg. 1909. N. 12. p. 134. (Nord. Mejeri Tidning. 1908. N. 52. p. 618.)

Hess, Alfred F., Partiell abgerahmte Milch. Die Verteilung der Bakterien in Flaschenmilch und ihre Bedeutung für die Säuglingsernährung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LXII. 1909. Heft 3. p. 395—400.)

Lindemann, Otto, Die Bereitung von Tilsiter Käse. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIX. 1909. N. 7. p. 75—76.)

O'Callaghan, M. A., Cheese-making in New South Wales: its whys and wherefores. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XX. 1909. Part 1. p. 32—36.)

Ostertag, Milchgewinnung und Milchbehandlung. (Landw. Ztschr. f. d. Rheinprov. Jg. X. 1909. N. 6. p. 67—70.)

The preservative action of boric acid in butter. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XX. 1909. p. 1033—1034.)

Trommsdorff, Richard, Zur Frage der reduzierenden Eigenschaften der Milch und der Schardingerschen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 2. p. 291—301.)

Wolff, A., Welche Mikroorganismen beteiligen sich an der Bildung des rotgelben Farbstoffes auf der Oberfläche der Käse im Reifungskeller? (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. V. 1909. Heft 4. p. 145—154.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion u. s. w.

Blasius, O. und **Bierotte, E.**, Neue Versuche mit Autan (Packung B) und dem Doerr- und Raubitschekschen Permanganatverfahren. (Hyg. Rundsch. Jg. XIX. 1909. N. 5. p. 251—268.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Christian, Der Universal-Dampf-Desinfektions-(Rubner-)Apparat. (Hyg. Rundsch. Jg. XIX. 1909. N. 5. p. 241—251. 2 Fig.)

Croner, F. und **Paucke, M.**, Vergleichende Untersuchungen über den Wert der Formaldehyddesinfektion nach den verschiedenen bekannten Verfahren. (Desinfektion. Jg. II. 1909. Heft 1. p. 1—27.)

Erb, Heinrich, Untersuchungen über die Desinfektionskraft von Phenostal (Diphenyl-o-Oxalester) und Kresoloxalsäure mit besonderer Berücksichtigung von Erregern tierischer Infektionskrankheiten. (Desinfektion. Jg. II. 1909. Heft 3. p. 110—140.)

Fehlhammer, Jac., Das Karbolineum im Dienste des Weinbaus. Als Beitrag zur Lösung der deutschen Weinbaukrisis bearbeitet. Neustadt a. H. (Meininger) 1909. 19 p. 8°. M. Fig. —,50 M.

Hewlett, R. Tanner, The Milroy Lectures on disinfection and disinfectants. (Lancet. 1909. Vol. I. N. 11. p. 741—745; N. 12. p. 815—821; N. 13. p. 889—894.)

Hiltner, L., Allerlei über die Verwendung des Karbolineums als Pflanzenschutzmittel. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau und -schutz. Jg. VII. 1909. Heft 1. p. 5—9.)

Lösener, Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd ohne Apparate. (Schluß.) (Desinfektion. Jg. I. 1908. Heft 4. p. 139—169.)

Lübbert, A., Leitsätze zur Einführung in die Frage der Abwasserreinigung. (Soziale Med. u. Hyg. Bd. IV. 1909. N. 3. p. 121—128.)

—, Die Abwasserreinigung im Kleinbetrieb. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. XXXII. 1909. N. 9. p. 141—145. 6 Fig.)

Mayer, Georg, Ueber die Desinfektionswirkung der Phenostal-Tabletten (Diphenyloxalester) und ihre ähnlichen Lösungen organischer Säuren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIX. 1909. Heft 4. p. 576—582.)

Molz, E., Ueber den heutigen Stand der Karbolineumfrage. (Zeitschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. Jg. XIII. 1909. Heft 6; Heft 7. p. 189—190.)

—, Ueber den heutigen Stand der Karbolineumfrage. (Tropenpflanzer. Jg. XIII. 1909. N. 3. p. 138—141.)

Ottolenghi, D., Ueber das Desinfektionsvermögen des Quecksilbersublimats. (Desinfektion. Jg. II. 1909. Heft 3. p. 105—110.)

Saito, F. Joichiro, Einige vergleichende Versuche über die desinfizierende Wirkung des Lysols, des Liquor Cresoli saponatus und einiger neuerer Desinfektionsmittel ähnlicher Zusammensetzung. (Desinfektion. Jg. I. 1908. Heft 6. p. 267—274.)

Saltykow, S., Ueber desinfizierende Wandanstriche. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LXII. 1909. Heft 3. p. 453—460.)

Schneider, Hans, Bemerkungen zur Publikation von Croner und Schindler; Karbolsäuretabletten (Diphenyloxalsäureester). (Desinfektion. Jg. I. 1908. Heft 4. p. 170—172. Bemerkungen hierzu von Croner u. Schindler ib. p. 172—175.)

Thiesing, Kadaververtilgung nach modernen Prinzipien. (Arch. f. Volkswohlfahrt. Jg. II. 1908. Heft 1.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Appel und **Gassner, G.**, Der Brand des Hafers und seine Bekämpfung. (Flugbl. N. 38. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. 4 p. 6 Fig.)

Attridge, H. L., South African bee-keeping. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXII. 1909. N. 6. p. 692—704. M. Fig.)

Bayer, E., Notes sur le galles de Dryophanta agama et disticha de l'iconographie „Galles de Cynipides". (Marcellia. T. VII. 1908. p. 3—13.)

Bernard, Ch., Ziekten der Theeplant. Vorloop. waarnem. (Med. proefstat. Thee, Dep. Landb. Buitenzorg 1908. 47 p.)

Bernard, Ch., De ziekten van de Theeplant. (Teysmannia 19. 1908. p. 611—620.)

Bezzi, M., Noterelle cecidologiche. (Marcellia. Vol. VII. 1908. p. 10—13.)

Briggs, L. J., Field treatment of Tobacco root rot, Thielavia basicola. (Circ. Dep. Agric. Washington 1908. 8 p.)

Briosi, G., Rassegna crittogamica per il primo semestre 1907, con notizie sul carbone e la carie dei cereali. (Boll. Uff. Min. agr. 7. 1908. p. 84—96.)

Brizi, U., Terzo contributo allo studio del brusone del riso. (Ann. Istit. Agr. T. VII. 1908. p. 1—66.)

Brooks, W., The fruit spot of apples. (Bull. Torr. bot. Club. Vol. XXXV. 1908. p. 423. 7 Taf. u. Fig.)

Brumme, Beobachtungen über die Frostschäden im Herbst 1908. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XVI. 1909. N. 1. p. 9—14.)

Burnat, Jean et **Jaccard, Paul**, L'acariose de la vigne. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 794. p. 235—239. 4 Fig.)

Burnat, Jean et **Jaccard, Paul,** L'acariose de la vigne. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 795. p. 257—261. 4 Fig.)

Busse, W., Der Wurzelbrand der Rüben. (Hannoversche Land- u. Forstwirtsch.-Ztg. Jg. LXII. 1909. N. 4. p. 76—78.)

Chittenden, F. H., The squash-vine Borer (Melittia satyriniformis Hbn.) Revised edition. Washington (Circ. Dep. Agr.) 1908. 6 p. 2 Fig. 0,50 M.

Collinge, Walter E., The apple blossom weevil. (Journ. of the board of agric. Vol. XV. 1908. N. 9. p. 674—678.)

Crawford, A. C., Baryum, a cause of the Loco-weed disease. (Bull. Dep. agric. Washington 1908. 87 p.)

Cuboni, G., Relazione sulle malattie delle piante studiate durante il bienno 1906—1907 nelle Reale Stazione di patologia vegetale di Roma. Roma 1908. 80 p.

Die Reblaus in Bayern. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXVII. 1909. N. 8. p. 62—63.)

Ducomet, V., Le dépérissement des bois de chêne-liège en Gascogne. (Bull. Off. Rens. agr. T. VII. 1908. p. 288—299.)

Evans, J. B. Pole, The mildews of the grape vine. (Transvaal agric. Journ. Vol. VII. 1909. N. 26. p. 213—217. 2 Taf.)

—, A note on the European apple-tree cancer fungus (Nectria ditissima Tul.). (Transvaal agric. Journ. Vol. VII. 1909. N. 26. p. 217. 1 Taf.)

Eriksson, Jakob, Einige Versuche, das Winterstadium des amerikanischen Stachelbeermehltaues mit Fungiciden zu töten. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VII. 1909. Heft 1. p. 3—5. 1 Fig.)

Felt, Ephraim Porter, White marked Tussock Moth and Elm Leaf Beetle. (New York State Mus. LX. Ann. Rep. 1906. Bull. 109. Entomol. 27. 1908. 14 p. 8 Taf.)

Foex, Et., Note sur Oidiopsis taurica (Lév.) Salmon. (Ann. de l'école nat. d'agric. de Montpellier. N. Sér. T. VIII. 1909. Fasc. 3. p. 176—186. 5 Taf.)

—, Les rouilles des céréales. Montpellier (Coulet et fils) 1908. 116 p.

Foot-and-mouth disease in the United States. (Journ. of the board of agric. Vol. XV. 1908. N. 9. p. 697—698.)

Gabotto, L., La Botrytis cinerea. (Ital. agric. T. XLV. 1908. p. 113—114.)

Gallacher, W. J., A root disease of Para (Hevea braziliensis) Rubber Trees. (Agr. bull. straits and [illegible]d Malay stat. Vol. VIII. 1908. p. 515—522.)

Giddings, N. J., The occurrence of plant diseases in 1907. (Bull. Vermont agr. exp. stat. 1908. N. 136.)

Griffon et **Maublanc,** Note sur diverses maladies des branches du pommier. (Bull. soc. nation. agr. France. 1908. 8 p.)

del Guercio, G., Sulla importanza della fillossera gallicola e della sua comparsa in Toscana. (Progr. Agric. 5. 1908. 14 p.)

—, Notizie intorno a due nemici nuovi ed ad un noto nemico dell' olivo mal conosciuto. (Redia. Vol. IV. 1908. p. 334—359. M. Fig.)

Guessow, H. T., Septoria spot. A new fungus disease of tomatoes. (Gard. Chron. Vol. XLIV. 1908. p. 121—122. M. Fig.)

van Hall, C. J. J. et **Drost, A. W.,** Les balais de sorcière du cacaoyer provoqués par Colletotrichum luxifigum n. sp. (Rec. trav. bot. Néerl. T. IV. 1908. p. 243—321. 17 Taf.)

Hartley, C. P., Some apple leaf-spot fungi. (Science. Vol. XXVIII. 1908. p. 157—159.)

Hewitt, C. Gordon, The large larch saw-fly. (Journ. of agric. Vol. XV. 1907. N. 9. p. 649—660. 1 Taf.)

Hunt, R., The loco-weed disease. (Science. Vol. XXVIII. 1908. p. 570—571.)

Kornauth, K. und **Reitmair, O.,** Die Blattrollkrankheit der Kartoffel und ihr Auftreten in Oesterreich. (Monatshefte f. Landwirtsch. Jg. II. 1909. Heft 3. p. 78—90.)

Kotelmann, Hasenfraßwunden an Obstbäumen. (Georgine. Jg. II. 1909. N. 12. p. 127.)

Laubert, R., Rätselhafte Kropfbildungen an Eichen, Birken und Rosenzweigen. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXVI. 1909. N. 19. p. 211—212. 2 Fig.)

Lange, Erwin, Krankheiten der Kulturpflanzen. 3. Serie: Die Rübenkrankheiten. 1 farb. Taf. 100 × 71 cm. M. Text. Leipzig (Lehrmittelanstalt) 1909. 6 M.

Le Phylloxéra en Algérie. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 793. p. 218.)

Massalongo, C., Osservazioni fitologiche. (Madonna Verona. Anno II. 1908. p. 29—39.)

Mitteilungen über Pflanzenkrankheiten im Großherzogtum Hessen und deren Bekämpfung, über angewandte Botanik und verwandte Gebiete. Aus d. Laborat. f. angew. Bot. v. Wilh. Zang. Jg. I. 1909. Darmstadt. 4,80 M.

Morstatt, H., Die Heu- und Sauerwurmfrage im Weinbau und die Bekämpfungsversuche mit Arsenpräparaten. (Weinbau- u. Weinhandel. Jg. XXVII. 1909. N. 12. p. 109.)

Olive, E. W., The relationships of the Aecidium-cup type of rust. (Science. N. S. Vol. XXVII. 1908. p. 214.)

Passy, P., Le dessèchement des feuilles du cerisier. (Rev. hort. Paris 1908. p. 178.)

Pechon, L., Principales maladies des arbres et des peuplements forestiers, dues aux champignons. (Bull. Soc. Centr. forest. Bruxelles 1907. 24 p. M. Taf. u. Fig.)

Peglion, V., La Peronospora delle curcubitacee. (Ital. Agric. Vol. XLV. 1908. p. 181. 1 Taf.)

Quanjer, H. M., Het bladvuur der komkommers veroorzaakt door Corynespora mazei (Tijdschr. planten Ziekt. 1908. p. 78.)

Reed, G. M., Infection experiments with Erysiphe cichoriacearum DC. (Bull. Univ. Wisconsin. Sc. Vol. III. 1908. p. 337—416.)

Remy, Th. und **Schneider, G.,** Beobachtungen über das Auftreten der Blattrollkrankheiten. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LVIII. 1909. Heft 6. p. 201—219.)

22d Report of the State Entomologist 1906. (New York State Mus. (60. Ann. Rep. 1906. Bull. 110. Entomol. 28. p. 39—186. 3 Taf.)

Ritzema Bos, J., Over de vermoedelijke oorzaak van het veelvuldig mislukken der Hyacintenbloemen in dezen winter. (Tijdschr. Plant. Ziekten. Bd. XIV. 1908. p. 96—100.)

—, Eenige merkwaardige misvormingen, veroorzaakt door Galmijten. (Tijdschr. Plant. Ziekten. Bd. XIV. 1908. p. 101—116. 5 Taf.)

Schander, R., Der amerikanische Mehltau des Stachelbeerstrauches und seine Bekämpfung. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. XXXVII. 1909. N. 11. p. 110—111.)

Schwartz, Martin, Zur Bekämpfung der Kokospalmen-Schildlaus (Aspidiotus destructor Sign.) (Tropenpflanzer. Jg. XIII. 1909. N. 3. p. 114—129.)

Sourzac, Louis, Recherches sur le black-rot. (Schluß.) (Ann. de l'école nat. d'agric. de Montpellier. N. Sér. T. VIII. 1909. Fasc. 3. p. 161—175.)

Spindler, M., Nematoden-Gallen auf Webera mutans (Schreb.) Hedw. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1909. Heft 4. p. 203—204. 1 Taf.)

Stevens, F. L. and **Hall, J. G.,** Hypochnose of pomaceous fruits. (Ann. mycol. Vol. VII. 1909. N. 1. p. 49—59. 8 Fig.)

Tichomirow, W. A., Le glycogène des champignons ascomycètes dans ses rapports avec la tréhalose. (Bull. Sc. Pharmacol. T. XV. 1908. p. 189.)

Varieties of seach in potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XV. 1909. N. 10. p. 749—751. 2 Taf.)

Voges, Ernst, Das pflanzliche Schmarotzertum und seine Bekämpfung. (Schluß.) (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXVI. 1900. N. 6. p. 54—55.)

Voglino, P., Le macchie ocracee del Pioppo canadense (Dothichizia populea). (Ital. agric. Vol. XLV. 1908. p. 61—62. 1 Taf.)

Wart disease (black scab) of potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XV. 1908. N. 9. p. 671—674.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Brunet, Raymond, L'emploi des composés arsénicaux. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 791. p. 145—149; N. 793. p. 201—203.)

Die 29. Denkschrift, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XXI. 1909. N. 2. p. 24—27.)

Feytaud, J., La déstruction de l'Eudémis. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 791. p. 149—151; N. 792. p. 184—188.)

—, La destruction de l'Eudémis. Nouveau essais de traitement par les liquides insecticides. (Rev. de viticult. Année XVI. 1909. N. 793. p. 208—221.)

Kulisch, P., Besichtigung der vorjährigen Versuche der landwirtsch. Versuchsstation betreffend Bekämpfung der Rebkraukheiten. (Mitt. d. Dtschn Weinbau-Ver. Jg. IV. 1909 N. 3. p. 91—95.)

Schwangart, Zur Bekämpfung des Traubenwicklers im Jahre 1908. (Mitt. d. Dtschn Weinbau-Ver. Jg. IV. 1909. N. 3. p. 87—91.)

Versuche mit Arsenbrühen gegen Heu- und Sauerwurm. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXVII. 1909. N. 8. p. 63.)

Inhalt.

Bierema, Steven, Die Assimilation von Ammon-, Nitrat- und Amidstickstoff durch Mikroorganismen, p. 672.

Engberding, Diedrich, Vergleichende Untersuchungen über die Bakterienzahl im Ackerboden in ihrer Abhängigkeit von äusseren Einflüssen, p. 569.

Lucks, R., Coniothecium arachideum, ein neuer, auf Erdnüssen vorkommender Pilz, p. 642.

Molz, E., Ueber Aphelenchus olesistus Ritz. Bos und die durch ihn hervorgerufene Aelchenkrankheit der Chrysanthemum, p. 656.

Stevens, F. L. and **Withers, W. A.,** Studies in soil bacteriology. II., p. 776.

Stigell, Rich. W., Experimental studies on the Agricultural-chemical Signification of certain Bacteria, p. 727.

Vanderleck, J., Milchanalysen, p. 766.

Neue Litteratur, p. 785.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 28. Juni 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXIII. No. 26.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXIII enthaltenen Arbeiten.

Appel, Ueber die Bekämpfbarkeit des Weizen- und Gerstenflugbrandes. 264
Atkinson, G. F., A parasitic Alga, Rhodochytrium spilanthidis Lagerheim in North America. 243

Baer, W., Gracilaria simploniella F. R. und die Eichenrindenminen. 259
Bärber, Marshall A., On heredity in certain microorganisms. 221
Ball, O. M., A contribution to the life history of bacillus (Ps.) radicicola Beij. *(Orig.)* 47
Bataille, F., Notes sur quelques Russules. 243
Beobachtungen bei der Verwendung von Karbolineummitteln. 278
Betten, R., Neueste Versuche und Erfahrungen mit dem Karbolineum als sicherem Mittel gegen Blutlaus, Krebs und Brand, gegen Fusicladium und Ungeziefer aller Art. 265
Bierberg, W., Ueber den Zusatz von Ammoniumsalzen bei der Vergärung von Obst- und Traubenweinen. *(Orig.)* 12
Bierema, Steven, Die Assimilation von Ammon-, Nitrat- und Amidstickstoff durch Mikroorganismen. *(Orig.)* 672
Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.**, Ueber die Selbsterhitzung des Heues. *(Orig.)* 106
Bokorny, Th., Assimilation des Formaldehyds. 231
Bredemann, G., Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaëroben Bakterien. 235
—, Die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens der Bakterien. *(Orig.)* 41
—, Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. *(Orig.)* 385
Bremner, O. E., New Coccidae from California. 254
Brusendorff, M. G. v., Ein Ameisensäure bildendes Myxoderma. *(Orig.)* 10
Buchanan, Robert Earle, The Bacteroids of Bacillus radicicola. *(Orig.)* 59
Buchner, Eduard und **Duchaček, Franz**, Ueber fraktionierte Fällung des Hefepreßsaftes. 230
Burri, R. und **Holliger, W.**, Zur Frage der Beteiligung gasbildender Bakterien beim Aufgehen des Sauerteiges. *(Orig.)* 99
— und **Thöni, J.**, Ueberführung von normalen, echten Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen. *(Orig.)* 32
Buß, Anton, Studien über Buttermilch. 239

Camiola, C. s. **Grazia de.**
Carbone, D. und **Marincola-Cattaneo, R.**, Su l'influenza dell'ossigeno nella decomposizione dei vegetali. 239
Cingolani, M., Ricerche intorno al processo della denitrificazione. 238

de Grazia s. **Grazia, de.**
Disqué, Heinrich, Versuch einer mikrolepidopterologischen Botanik. 258
Duchaček, Franz s. **Buchner, Eduard.**

Ehrenberg, Beiträge zur Ammoniakfrage I. 235
Engberding, Diedrich, Vergleichende Untersuchungen über die Bakterienzahl im Ackerboden in ihrer Abhängigkeit von äußeren Einflüssen. *(Orig.)* 569
Engler, A. und **Krause, K.**, Ueber die Lebensweise von Viscum minimum Harvey. 248
Escherich, K., Neues vom Maikäfer. 258

Faber, F. C. v., Die Krankheiten und Schädlinge des Kaffees. *(Orig.)* 193
Falck, Richard, Neue Mitteilungen über die Trockenfäule. 250
Feilitzen, Hjalmar von, Nitro Bacterine, Nitragin oder Impferde? *(Orig.)* 374
Fischer, Ed., Infektionsversuche mit Rostpilzen. 245
Fischer, Hugo, Besitzen wir eine brauchbare Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung? *(Orig.)* 144
Fischer, J., Mittel zur Bekämpfung der Peronospora und des Oidiums der Rebe. 266
Friderici, Die südamerikanische Wanderheuschrecke. 257
Friedberger, E., Versuche über die Verwendbarkeit der amerikanischen Schnell-

filtration (Filter der Jewell Filter Company) für die Königsberger Wasserversorgung. 280
Fuhrmann, F., Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. 279

Glenn, T. H. s. **Heinemann, P. G.**
Gorini, C., Ricerche sopra una grave malattia del formaggio Gorgonzola. 240
Grazia, S. de, Su la nitrificazione della calciocianamide in diversi tipi di terreno. 238
— e **Camiola, C.,** Su l'intervento dei microorganismi nella utilisazione della potassa leucitica. 238
Green, E. E., Remarks on indian scale insects (Coccidae). 254
—, White Ants. 255
Grund, Massenhaftes Auftreten von Schmetterlingen im Jahre 1908. 259
Guinier, Ph. et **Maire, R.,** Sur l'orientation des réceptacles des Ugulina. 252

Hariot, P., Les Urédinées. 245
Hayduck, F., Ueber Pilzgifte in Getreide, Würzen und Hefen und die Abhängigkeit ihrer Wirkung von Mineralsalzen. 242
Heinemann, P. G. and **Glenn, T. H.,** A comparison of practical methods for determining the bacterial content of milk. 281
Herbst, P. s. **Kieffer.**
Herzog und **Meyer,** Ueber Oxydation durch Schimmelpilze. 233
— und **Ripke,** Notiz über die Umwandlung von Zimmtsäure in Styrol durch Schimmelpilze. 241
Hiltner, Bericht über Versuche auf bakteriologisch-landwirtschaftlichem Gebiete. 234
Holliger, W. s. **Burri, R.**
Holzmüller, K., Die Gruppe des Bacillus mycoides Flügge. *(Orig.)* 304
Huber, Fusicladiumbekämpfung durch Kupferkalkbrühe oder Karbolineum. 265

Jeanmaire, M. J., De la nocivité relative et temporaire de l'Amanita junquillea. 243
Jickeli, Carl F., Zellteilung, Encystierung und Befruchtung als periodische Ausscheidungen. 220
Jordan, Edwin O., A textbook of general bacteriology. 220
Istvánffy, G. de, La lutte contre le Botrytis cinerea, pourriture grise de la vigne. 264
—, La lutte contre le rot livide (White-rot [Coniothyrium diplodiella]) de la vigne. 263
Kauffmann, A contribution to the physiology of the Saprolegnaceae. 244
Kelhofer, W., Ueber einige Gesichtspunkte bei der Herstellung der Bordeauxbrühe. 278
Kieffer und **Herbst, P.,** Ueber einige neue Gallen und Gallenerzeuger aus Chile. *(Orig.)* 119
Kohn, Eduard, Zur Methodik der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung. *(Orig.)* 126
Kossowicz, Alexander, Bakteriologische Untersuchungen über das Weichwerden eingesäuerter Gurken. 241
Krause, K. s. **Engler, A.**
Krieg, W., Ueber die Ursachen der Spezialisation und die Entstehung des Wirtswechsels bei den Uredineen. 246
Krueger, Ein Beitrag zur Untersuchung der Stickstoffumsetzungen im Boden. 236
Krzemieniewski, Seweryn, Untersuchungen über Azotobacter chroococcum. *(Orig.)* 161
Küster, E., Keimung und Entwickelung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen. 240
Kusano, S., Further studies on Aeginetia indica. 249
—, On the parasitism of Siphonostegia (Rhinantheae). 249

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 224
Lanz, Die Schälbeschädigungen des Rotwildes. 261
—, Dasselbe (Entgegnung und Ergänzung). 261
Lenk, Fraß der kleinen Fichtenblattwespe (Nematus abietum Hrtg.) im Forstbezirk Linz. 254
Lodes, Anton, Ein neuer Laubholzschädling (Barbitistes Oczkayi Charp.). 257
Löhnis, Die Beurteilung der Milch mit Hilfe der Gärproben. 281
Lucks, R., Coniothecium arachideum, ein neuer auf Erdnüssen vorkommender Pilz. *(Orig.)* 642
Lüstner, Gustav, Sinngemäße Niederhaltung der tierischen und pflanzlichen Krankheitserreger der Obstbäume und Gartengewächse. 266
—, Beobachtungen über das Auftreten von Pflanzenläusen auf den Früchten der Kernobstbäume. 253
—, Ueber ein stärkeres Auftreten der Raupen von Argyresthia conjugella Zll. in den Früchten des Apfelbaumes. 259
—, Peronosporabekämpfungsversuche. 265
—, Versuche mit Karbolineumemulsionen. 278
—, Ueber stärkere, in den Jahren 1906 und 1907 beobachtete Insektenschäden. 253

Maire, René, Les suçoirs des Meliola et des Asterina. 253
— s. **Guinier, Ph.**
Marlatt, C. L., The periodical cicada (Tibicen septendecim L., race tredecim Walsh-Riley). 257
Marincola-Cattaneo, R. s. **Carbone, D.**
Matenaers, Das Besprenkeln der Kartoffeln

als sicheres Schutzmittel gegen Krankheiten. 278
Merker, G., Die Mistel auf der Fichte. 248
Meyer s. **Herzog.**
Molz, E., Ueber Aphelenchus olesistus Ritz. Bos und die durch ihn hervorgerufene Aelchenkrankheit der Chrysanthemum. *(Orig.)* 656
Moritz, J., Beobachtungen und Versuche betreffend die Reblaus, Phylloxera vastatrix Pl., und deren Bekämpfung. 271
Mücke, M., Zur Kenntnis der Eientwickelung und Befruchtung von Achlya polyandra De By. 244
Müller-Rutz, J., Beitrag zur Microlepidopteren-Fauna der Schweiz. 258

Nüsslin, Zur Biologie der Chermes piceae Ratz. 255

Ott de Vries, J. J. s. **Boekhout, F. W. J.**

Peltereau, M., Etudes et observations sur les Russules. 243
Potter, M. C., Ueber eine Methode, parasitäre Krankheiten bei Pflanzen zu bekämpfen. *(Orig.)* 379
Pringsheim, Hans, Ueber die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs. *(Orig.)* 300
Probst, R., Infektionsversuche mit Kompositen bewohnenden Puccinien. 247

Reed, H. S., The value of certain nutrition elements to the plant cell. 221
Resenscheck, Friedrich, Einwirkung von kolloidalem Eisenhydroxyd auf den Hefepreßsaft. 231
Ripke s. **Herzog.**
Rosenthaler, L., Durch Enzyme bewirkte asymetrische Synthesen. 230
Růžička, Vladislav, Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre. *(Orig.)* 289

Sabaschnikoff, Untersuchungen über Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. 236
Sanders, J. G., The terrapin scale (Eulecanium nigrofasciatum Pergande). 254
Schellenberg, H., Versuche über die Bekämpfung der Peronospora. 265
Schramm s. **Trump, N. N.**
Schrammen, F. R., Ueber das Reizleben der Einzeller. 221
Schroeter, J., Pilze. Kryptogamenflora von Schlesien. 229
Schwartz, Martin, Ueber einige neue und alte Mittel zur Bekämpfung schädlicher Insekten. 268
Sobotta, Wird der Wert des Stalldüngers durch die in unseren Viehställen verwendeten Desinfektionsmittel beeinflußt? 262
Söhngen, N. L., Ureumspaltung bei Nichtvorhandensein von Eiweiß. *(Orig.)* 91
Spieker, Versuche mit verschiedenen Spritzmitteln auf dem Obstgut Walthersberg. 278
Stevens, F. L. and Withers, W. A., Studies in soil bacteriology I. *(Orig.)* 355
— —, Studies in soil bacteriology II. *(Orig.)* 776
Stigell, R. W., Experimental studies on the agricultural-chemical signification of certain Bacteria. *(Orig.)* 727
Stift, A., Ueber im Jahre 1908 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten und Mitteilungen auf dem Gebiete der Zuckerrüben- und Kartoffelkrankheiten. *(Orig.)* 173
—, Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. 252
Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus und ähnlicher Schädlinge an Obstbäumen. 269
Sydow, H. et P., Ueber eine Anzahl aus der Gattung Uromyces auszuschließender resp. unrichtig beschriebener Arten. 245
Szigethi, Gy. A., A szölöf ajták Phylloxera iránti ellenállósága szövettanilag. [Die Widerstandsfähigkeit der Rebenarten hinsichtlich der Gewebekonstruktion von deren Wurzeln.] 270

Thöni, J. s. **Burri, R.**
Trump, N. N., Die Schälbeschädigungen des Rotwildes. 261
—, **Ziegenmeyer** und **Schramm,** Bemerkungen zu diesen Aufsätzen. 261
Tubeuf, K. v., Hexenbesen von Prunus Padus. 248

Ugrenović, A., Waldinsektenschäden in Slawonien. 253

Vanderleck, J., Milchanalysen. *(Orig.)* 765
Volkhart, Die Trockenfäule der Kartoffeln. 251

Withers, W. A. s. **Stevens, F. L.**
Wolff, Max, Ueber das Auftreten der Mayetiola destructor Say (Hessenfliege) im Jahre 1908, nebst Bemerkungen über Larve, Puppenhülle und Imago. *(Orig.)* 109
—, Zur Kenntnis der natürlichen Feinde von Scolytus rugulosus Rtzb. 266

Yégounow, Michel, Poids moléculaire et la forme des corps. Travail du poids moléculaire. *(Orig.)* 1
Ziegenmeyer s. **Trump, N. N.**

II. Sachverzeichnis.

Acarina s. Milben.
Acarus Coffee, Identität mit Tetranychus bioculatus. 219
Acer campestre, Schädigung durch Phycita Coronatella. 259
— Monspessulanum, Schädigung durch Barbitistes Oczkayi. 257
Achlya polyandra, Befruchtung. 244
— —, Eientwickelung. 244
Adalia bipunctata, Feind von Nectarophora solanifolii. 183
Adelphocoris lineolatus, Zuckerrüben schädigend. 175
Aecidium Homogynes, Beziehung zu Uromyces Veratri. 245
Aeginetia indica, Entwickelung. 249
— —, Keimung. 250
Algen, Assimilation von Formaldehyd. 231
—, Kultur in unvollständigen Nährlösungen. 221
—, parasitäre. 210. 243
Alkohol, Bildung durch Bac. amylobacter. 526
Allium, Schädigung durch Polychrosis bicinctana. 259
Alternaria solani, Kartoffeln schädigend. 192
Amanita junquillea, Giftwirkung. 243
— —, Speisepilz. 243
Ambrosia artemisiaefolia, Schädigung durch Rhodochytrium spilanthidis. 243
Ameisensäure, Bildung durch Mycoderma. 10
Ammoniak, schwefelsaures, Wirkung auf schwerem Boden. 234
Ammoniumnitrat, Wirkung auf Denitrifikation. 238
Ammoniumsalze, Gärung von Obst- und Traubenwein beinflussend. 12
Ammoniumsulfat, Schutzmittel gegen Insektenfraß. 174
Ammophila arenaria, Schädigung durch Anerastia lotella. 258
— —, Schädigung durch Dactylota kinkerella. 258
Anerastia lotella, Schädling von Ammophila arenaria. 258
Angeiomyia spinulosa, Gallenbildung an Hydrangea scandens. 124
Antennaria setosa, Schädling des Kaffeebaums. 198. 199
Antheridien, Bildung, in calciumfreien Lösungen. 221
—, —, Wirkung anorganischer Salze. 244
Anthomyia conformis, angegriffen von Opius nitidulator. 175
— —, Zuckerrübenschädling, Bekämpfung. 174
Anthostomella Coffeae, Ascosporenform von Hendersonia Coffeae. 205
— —, Schädling des Kaffeebaumes. 205
Apfelbaum, Schädigung durch Argyresthia conjugella. 259
Apfelbaumgespinstmotte. 254
Aphanomycos laevis, Untersuchung. 244
— —, Zuckerrüben schädigend. 176
Aphelenchus Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 217
— olesistus, Bekämpfung. 663
— —, Biologie. 660
— —, Schädling von Chrysanthemum. 656
Aphiden, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia. 122
Aphis Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 199
Archegonien, Bildung, Bedeutung des Calcium. 221
Argyresthia conjugella, Schädling an Aepfeln. 259
— —, Schädling an Sorbus aucuparia. 259
Armillaria mellea, Schädling des Kaffeebaums (?). 208
Arsenik und Schwefel, Dämpfe gegen Termiten. 257
Artocarpus, Schädigung durch Loranthus pentandrus. 214
Asparagin, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 66
Aspergillus, Zerstörung von Kartoffelstärke. 239
— atropurpureus, Schädling des Kaffeebaums. 210
— fumigatus, Giftbildung. 229
— niger, Bildung von Styrol aus Zimmtsäure. 241
— —, Entwickelung auf gebrauchter Nährlösung. 239
— —, Keimung, Wirkung von Magnesium. 221
— —, Lösung von Leucit. 239
Aspidiotus densiflorae, Schädling von Quercus densiflora. 254
— ostreaeformis, Biologie. 253
— yulupae, Schädling von Quercus lobata. 254
Assimilation, Formaldehyd- durch Algen. 231
Asterina, Haustorienbildung. 253
Asterolecaniinae, Vorkommen in Indien. 254
Azotobacter chroococcum, Stickstoffbindung. 161.
— —, —, Wirkung von Humusstoffen. 167
— —, Untersuchung. 161
Baccharis eupaterioides, Gallen durch Scheueria longicornis. 119
— —, Gallen durch Trypetiden. 120
— rosmarinifolia, Gallen durch Aphiden. 122
— —, — durch Cecidomyiden. 122
— —, — durch Lecanium resinatum. 122
— —, — durch Perrisia chilensis. 121
— —, — durch Phylliden. 122
Bacillus aërogenes, Vorkommen in Milch. 772
— albus gasoformans, Vorkommen im Wasser. 134

Bacillus amylobacter, Alkoholbildung. 526
— —, Entwickelung, Wirkung des Nährbodens. 461
— —, Glykogenspeicherung. 443
— —, Identität mit Bac. saccharobutyricus. 389
— —, — mit Clostridium americanum. 389
— —, — mit Clostridium Pasteurianum. 389
— —, — mit Granulobacter butylicum. 389
— —, — mit Granulobacter pectinovorum. 389
— —, Iogenspeicherung. 443
— —, Mikrooidienbildung. 444
— —, Morphologie verschiedener Stämme. 423
— —, Reservestoffe. 443
— —, Sporenbildung, Wirkung des Nährbodens. 462
— —, Sporenbildung, Wirkung von Sauerstoffspannung. 456. 458
— —, Sporenkeimung. 435. 458
— —, Stickstoffbindung. 41. 478. 511
— —, —, quantitative Versuche. 493
— —, —, Regeneration des Vermögens. 235. 487
— —, —, Verlust des Vermögens. 481
— —, Untersuchung verschiedener Stämme. 385
— —, Verbreitung. 399
— —, Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohen Sauerstoffdruck. 474
— —, Widerstandsfähigßeit der Sporen gegen hohe Temperatur. 471
— —, Wirkung der Sauerstoffspannung auf die Sporenkeimung. 453. 458
— —, Wirkung der Temperatur auf die Entwickelung. 452
— anthracis, Sporenbildung. 293
— aquatilis communis, Vorkommen im Wasser. 130
— — fluorescens, Vorkommen im Wasser. 130
— asterosporus, Stickstoffbindung. 45
— —, Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperatur. 471
— atrosepticus, Vorkommen in eingesauerten Gurken. 241
— aurantiacus, Vorkommen im Wasser. 132
— botulinus, Vorkommen in verdorbenem Gemüse. 227
— carnosus, Vorkommen im Wasser. 133
— caseï, Wirkung von Mycoderma auf denselben. 35
— chryseus, Vorkommen im Wasser. 134
— cloacae, Vorkommen im Wasser. 131
— coli, Vorkommen in Milch. 772
— — communis, Mutation. 223
— — —, Vorkommen im Wasser. 131
— dendroides, Morphologie und Physiologie. 331
— effusus, Morphologie und Physiologie. 323
— fluorescens aureus, Vorkommen im Wasser. 132
— — fuscus, Vorkommen im Wasser. 133
Bacillus fluorescens immobilis, Vorkommen im Wasser. 131
— fuscus, Vorkommen im Wasser. 135
— gasoformans, Vorkommen im Wasser. 132
— levans, Gasbildung. 228
— —, Vorkommen im Mehlteig. 228
— liquidus, Vorkommen im Wasser. 130
— luteus, Vorkommen im Wasser. 130
— megatherium, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 735
— —, Stickstoffbindung. 784
— mesentericus fuscus, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 735
— — niger, Sporenbildung. 608
— — vulgatus, Vorkommen in eingesäuerten Gurken. 241
— mirabilis, Vorkommen in verdorbenem Gemüse. 227
— mycoides, Morphologie und Physiologie. 304
— —, Stickstoffbindung. 784
— —, Zuckerrüben schädigend. 177
— nanus, Morphologie und Physiologie. 329
— Neapolitanus s. Bac. coli communis.
— nitri, Struktur. 291
— ochraceus, Vorkommen im Wasser. 135
— olfactorius, Morphologie und Physiologie. 325
— oogenes fluorescens s. Bac. fluorescens fuscus.
— phytophthorus, Kartoffeln schädigend. 191
— prodigiosus, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 736
— pyocyaneus, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 736
— pyogenes foetidus s. Bac. coli communis.
— radicicola, Bakterioidenbildung. 59
— —, Biologie. 47
— ruber berolinensis, Vorkommen im Wasser. 136
— saccharobutyricus, Identität mit Bac. amylobacter. 389
— —, Stickstoffbindung. 511
— sinapivagus, Vorkommen in eingesäuerten Gurken. 241
— stolonatus, Vorkommen im Wasser. 136
— subtilis, Stickstoffbindung. 784
— viscosus sacchari, Vorkommen im Rübensaft. 228
Bacterium brunneum s. Bac. fuscus.
— coli s. a. Bacillus coli.
— coli, Vorkommen in eingesäuerten Gurken. 241
— — commune, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 736
— — —, Gasbildung. 228
— — —, Vorkommen im Mehlteig. 228
— erythrogenes, Spaltung von Kalkstickstoff. 237
— gelatinosum betae, Vorkommen im Rübensaft. 227
— levans, Teiggärung. 99
— pediculatum, Vorkommen im Rübensaft. 227

Bacterium prodigiosum, Farbbildung. 229
— —, Vorkommen an Brot. 229
— vulgare, Vorkommen in eingesäuerten Gurken. 241
Bakterien, Chromiolenstruktur. 300
—, Cytologie der sporenbildenden. 289
—, Denitrifikation. 238
—, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 735
—, Farbbildung. 229
—, Fäulnis-, Wirkung von Kalk. 236
—, Gasbildung. 228
—, — beim Aufgehen des Sauerteigs. 99
—, Milchsäure-, Ueberführung in fadenziehende Rassen. 32
—, peptonisierende, Buttermilch schädigend. 240
—, Sporenbildung. 222. 291. 293. 341. 348. 351. 456. 458. 462. 605
—, —, Wirkung äußerer Bedingungen. 341. 348. 351
—, —, — des Nährbodens. 462
—, Sporenkeimung, Wirkung der Ernährung. 335
—, —, — der Sauerstoffspannung. 453. 458
—, —, — der Wärme. 347
—, Stickstoffbindung. 41. 45. 161. 167. 235. 355. 478. 487. 493. 511. 672. 784
—, —, Regeneration des -vermögens. 41
—, Struktur derselben. 289
—, Ureumspaltung. 94
—, Ursache der Ringkrankheit der Kartoffel. 188
—, Vorkommen im Boden. 308. 325. 329. 355. 395. 400. 569
—, — im Boden, Einfluß der Bodenbearbeitung. 597
—, — im Boden, Einfluß der Bodenfeuchtigkeit. 587
—, — im Boden, Einfluß mineralischer Düngemittel. 603
—, — im Boden, Einfluß organischer Substanzen. 601
—, — Vorkommen im Boden, Einfluß der Temperatur. 594
—, — in Buttermilch. 240
—, — im Darm des Frosches. 323. 325. 329. 331
—, — im Darm des Goldfisches. 325. 329
—, — im Darm von Mehlwürmern. 308
—, — im Darm von Meerschweinchen. 308
—, — im Darm von Vögeln. 224
—, — in eingesäuerten Gurken. 241
—, — in faulendem Fleisch. 224
—, — in Flußsand. 400
—, — im Mehl. 228
—, — im Mehlteig. 228
—, — in Milch. 281. 768
—, — in Rüben. 379
—, — im Rübensaft. 227
—, — im Sauerteig. 99
—, — im Schlamm. 400
—, — im Seesand. 400
—, — in verdorbenem Gemüse. 227
—, — im Wasser. 126
—, Wachstum, Wirkung der Ernährung. 333
Bakterien, Wachstum, Wirkung des Lichtes. 345
—, —, — des Sauerstoffs. 349
—, —, — der Wärme. 346
—, Zählung. Einfluß der Aussaatmenge. 579
—, —, Einfluß des Nährbodens. 572
—, —, Methodik. 571
—, Zersetzung von Pflanzenresten. 239
Bakterienringkrankheit s. a. Kartoffeln, Ringkrankheit.
— der Kartoffel, Bekämpfung. 252
— der Kartoffel, Symptome. 252
Bakteriologie, Lehrbuch der allgemeinen, von Edwin O. Jordan. 220
Bakteroiden, Bildung bei Bac. radicicola, Wirkung chemischer Agentien. 59
Balanophoraceen, Schädlinge des Kaffeebaumes. 215
Barbitistes Oczkayi, Ephippiger discoidalis Feind von —. 257
— —, Pholidoptera Chabrieri, Feind von —. 257
— —, Schädling von Acer Monspessulanum. 257
— —, Schädling von Eichen. 257
Basidiobolus ranarum, Kultur in unvollständigen Nährlösungen. 221
Beerensträucher, Schädigung durch Eulecanium nigrofasciatum. 254
Bekämpfung parasitärer Krankheiten, eine neue Methode. 379
Benzaldehyd, Verbindung mit Blausäure, Wirkung von Emulsin auf die Reaktion. 230
Bixa orellana, Schädigung durch Corticium javanicum. 203
— —, — durch Necator decretus. 205
Blattfleckenkrankheit, Kaffeebaum, durch Microthyrium Coffeae. 197
—, Zuckerrübe, durch Cercospora beticola. 180
Blattrollkrankheit s. a. Kartoffel, Blattrollkrankheit.
— der Kartoffel, Bekämpfung. 252
— der Kartoffel, Symptome. 252
Blausäure, Verbindung mit Benzaldehyd, Wirkung von Emulsin auf die Reaktion. 230
Blütenzweigdürre des Kaffeebaums, Bekämpfung. 206
— des Kaffeebaums, Erreger. 205
Blutlaus, Bekämpfung. 269
—, — mit Karbolineum. 265
Boden, bakteriologische Untersuchung, Methodik. 144
—, Einfluß auf Blattrollkrankheit der Kartoffel. 185
—, Moor-, Wirkung auf die Entwickelung verschiedener Pflanzen. 235
—, Reaktion, Aenderung durch Stickstoffdüngung. 235
—, Stickstoffbindung durch Bakterien. 355
—, Vorkommen von Bakterien. 308. 325. 329. 355. 395. 400. 569

Bodenmüdigkeit, infolge hemmender Stoffe. 176
Boehmeria nivea, Schädigung durch Corticium javanicum. 203
Borax, Konservierung von Fleisch. 225
Bordeauxbrühe s. a. Kupferkalkbrühe.
—, Bekämpfungsmittel gegen Stilbella coffeicola. 196
Borsäure, Konservierung von Fleisch. 225
Botrytis cinerea, Bekämpfung. 264
— —, Schädling des Weinstockes. 263
Brache, Wert gegenüber Gründüngung. 234
Brot, Fadenziehen. 229
—, Farbigwerden. 229
—, Kreidekrankheit. 229
—, Schimmeln. 229
—, Schleimigwerden. 229
—, Vorkommen von Bacterium prodigiosum. 229
—, — von Endomyces fibuliger. 229
—, — von Monilia variabilis. 229
—, — von Mucor ambiguus. 229
—, — von Mucor de Baryanus. 229
—, — von Mucor plumbeus 229
—, — von Oidium aurantiacum. 229
—, — von Rhizopus nodosus. 229
Buche, Schädigung durch Engerlinge. 258
Buchweizen, Entwickelung, Wirkung von saurem Boden. 235
Buttermilch, Untersuchung. 239
—, Vorkommen von Bakterien. 240
Calcium, Aufhebung der Giftwirkung von Magnesium. 221
—, Bedeutung für Antheridienbildung. 221
—, — für Archegonienbildung. 221
—, — für Cellulosebildung. 221
Calciumcyanamid s. Kalkstickstoff.
Campilomma verbasci, Zuckerrüben schädigend. 175
Capnodium brasilicum, Schädling des Kaffeebaums. 199
— Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 199
— depressum, Unterscheidung von C. javanicum. 198
— javanicum, Schädling des Kaffeebaums. 198. 199
— trichostomum, Schädling des Kaffeebaums. 199
Capsella bursa pastoris, Winteraufenthalt von Nectarophora solanifolii. 183
Carpocoris fuscispiney, Zuckerrüben schädigend. 175
Cassida nobilis, Zuckerrüben schädigend. 174
Cecidomyiden, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia. 122
Ceiba pentandra, Schädigung durch Corticium javanicum. 203
Cellulose als Energiequelle zur Stickstoffbindung. 300
—, Bildung, Bedeutung des Calcium. 221
—, Methangärung der. 301
Cephaleuros, Schädling von Mangifera indica. 210
— Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 212. 213
Cephaleuros Henningsii, Schädling der Vanille. 210
— mycoidea, Schädling des Kaffeebaums. 210
— virescens, Identität mit Mycoidea parasitica. 212
— —, Schädling des Kaffeebaums, Bedeutung. 213
— —, — des Kaffeebaums, Bekämpfung. 214
— —, — des Kaffeebaums, Entwickelung. 212
— —, — des Kaffeebaums, Symptome. 210
— —, — des Teestrauches. 210
Cephalobus brevicaudatus, Schädling des Kaffeebaums. 218
— longicaudatus, Schädling des Kaffeebaums. 218
Cercospora beticola, Schädling von Zuckerrüben. 180
— —, Verbreitung durch Wind und Insekten. 180
— coffeicola, Schädling des Kaffeebaums. 197
Chermes piceae, Biologie. 255
— —, Parthenogenese. 255
Chiropachys colon, Feind von Scolytus rugulosus. 266
Chlor, Bekämpfungsmittel gegen Trockenfäule der Rüben. 181
—, — gegen Wurzelbrand der Rüben. 180
Chromidialtheorie, Anwendung der — auf Bakterien. 295
Chromiolenstruktur der Bakterien. 300
Chrysanthemum, Schädigung durch Aphelenchus olesistus. 656
Chrysophlyctis endobiotica, Erreger von Kartoffelkrebs. 189
Citrus, Schädigung durch Loranthus pentandrus. 214
Clostridium americanum, Identität mit Bac. amylobacter. 389
— gelatinosum, Vorkommen in Rübensaft. 227
— Pasteurianum, Identität mit Bac. amylobacter. 389
Clusia insignis, Schädling des Kaffeebaums. 215
Clypeolum megalosporum, Schädling des Kaffebaums. 197
Cocciden, Vorkommen in Indien. 254
Coccinae, Vorkommen in Indien. 254
Coccus stellatus s. Micrococcus stellatus.
Coleanthus subtilis, Schädigung durch Uredo Coleanthi. 246
Colletotrichum incarnatum, Schädling des Kaffeebaums. 197
Colletotrichum Vitis, Schädling des Weinstockes. 263
Colutea arborescens, Schädigung durch Etiella zinckenella. 258
— —, Schädigung durch Grapholitha nebritana. 258
Coniothecium arachideum, Kultur. 652
— —, Schädling von Erdnüssen. 642
— —, Verbreitung. 647

Coniothyrium Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 197
— diplodiella, Erreger der Weißfäule des Weinstockes. 263
Coronilla emerus, Zersetzung durch Pilze und Bakterien. 239
Corticium javanicum, Schädling von Bixa orellana. 203
— —, — von Bochmeria nivea. 203
— —, — von Ceiba pentandra. 203
— —, — von Erythroxylon coca. 203
— —, — des Kaffeebaums. 203. 209
— —, — des Kaffeebaums, Bekämpfung. 204
— —, — des Kaffeebaums, Verbreitung. 204
— —, — des Kakaobaums. 203
— —, — des Theestrauches. 203
Cucasa, Bekämpfungsmittel gegen Plasmopara. 266
Cytispora ampelina, Schädling des Weinstockes. 264
Dactylopinae, Vorkommen in Indien. 254
Dactylota kinkerella, Schädling von Ammophila arenaria. 258
Datylopius Adonidum, Schädling des Kaffeebaumes. 199
Dematophora necotrix, Schädling des Kaffeebaumes (?) 208
Denitrifikation durch Bakterien. 238
—, Wirkung von Ammoniumnitrat. 238
Desinfektion der Rübensaat gegen Wurzelbrand, Wert. 176
Diaspidinae, Vorkommen in Indien. 254
Diaspis fallax, Biologie. 253
Diplodia coffeicola, Schädling des Kaffeebaumes. 209
Dorylaimus javanicus, Schädling des Kaffeebaumes. 218
Eiche s. a. Quercus.
—, Schädigung durch Barbitistes Oczkayi. 257
—, Schädigung durch Gracilaria simploniella. 259
Eichenwickler. 254
Einzeller, Bedeutung der Sinnesorgane. 221
Eisenfleckigkeit s. Kartoffel, Eisenfleckigkeit.
Eisenvitriol, Wirkung auf Kalkabneigung der Leguminosen. 234
Emulsin, Wirkung auf die Verbindung von Blausäure und Benzaldehyd. 230
Endomyces fibuliger, Vorkommen an Brot. 229
Engerlinge, Schädlinge an Buchenwurzeln. 258
—, Schädlinge an Zuckerrüben. 173
Enzyme, Fällung durch Eisenhydroxyd. 231
—, Wirkung auf Verbindung von Blausäure und Benzaldehyd. 230
Entomophthora aphidis, Feind von Nectarophora solanifolii. 183
— planchoniana, Feind von Nectarophora solanifolii. 183
Ephippiger discoidalis, Feind von Barbitistes Oczkayi. 257
Erblichkeit bei einzelligen Organismen. 222
Erdfloh, Kartoffeln schädigend. 192
Erdnuß, Schädigung durch Coniothecium arachideum. 642
Eriococcinae, Vorkommen in Indien. 254
Ernährung, Wirkung auf die Sporenkeimung. 335
—, Wirkung auf Wachstum von Bakterien. 333
Erythroxylon coca, Schädigung durch Corticium javanicum. 203
— —, Schädigung durch Necator decretus. 205
Escallonia pulverulenta, Gallen. 123
Etiella zinckenella, Schädling von Colutea arborescens. 258
Euchytreiden, Schädlinge des Kaffeebaumes. 218
Eulecanium nigrofasciatum, Schädling von Obstbäumen und Beerensträuchern. 254
— —, Bekämpfung. 254
Euphorbia polygona, Schädigung durch Viscum minimum. 248
Euryachora liberica, Schädling des Kaffeebaumes. 206
Eurygaster maurus, Zuckerrüben schädigend. 175
Eurydema oleraceum, Zuckerrüben schädigend. 175
Evetria posticana, Schädling von Föhren. 259
Exapate ignotella, Schädling von Thalictrum foetidum. 259
Fadenziehen des Brotes. 229
Fäule, weiße der Rüben durch Pseudomonas destructans. 379
Fäulnisbakterien s. Bakterien, Fäulnis-.
Farbbildung durch Bact. prodigiosum. 229
— durch Bakterien. 229
— durch Oidium aurantiacum. 229
— durch Oidium aureum. 229
Farbigwerden des Brotes. 229
Farnprothallien, Kultur in unvollständigen Nährlösungen. 221
Fichtenblattwespe s. Nematus abietum.
Fichte, Schädigung durch Mistel. 248
Fleisch, Konservierung durch Borax. 225
—, — durch Borsäure. 225
—, — durch Formaldehyd. 225
—, — durch Luftabschluß und Erhitzen. 226
—, — durch Natron, benzoesaures. 225
—, — durch Salzlösungen. 224
—, — durch schweflige Säure. 225
Flugbrand der Gerste, Bekämpfung. 264
— des Weizens, Bekämpfung. 264
Flugasche, Zuckerrüben schädigend. 183
Flußsand, Vorkommen von Bakterien. 400
Föhren, Schädigung durch Evetria posticana. 259
Formaldehyd, Assimilation durch Algen. 231
—, Konservierung von Fleisch. 225
—, Umwandlung von Stärke. 233
Fortpflanzung von Pilzen, Wirkung äußerer Bedingungen. 244
Fusarium, Erreger der Blattrollkrankheit der Kartoffel. 184

Fusarium, Erreger von Trockenfäule der Kartoffel. 184
— coffeicola, Schädling des Kaffees. 197
— oxysporum, Trockenfäule der Kartoffel. 251
— —, Infektionsversuch mit Kartoffelknollen. 251
— solani, Kartoffeln schädigend. 190
Fusicladium, Bekämpfung durch Karbolineum. 278
—, Bekämpfung durch Kupferkalkbrühe. 265. 278
Fußkrankheit des Kaffeebaumes. 206
Gabelbeinigkeit s. Zuckerrübe, Beinigkeit.
Gärung, Cellulose- 300
—, Mehlteig-, Vorkommen von Bakterien. 228
— von Obst- und Traubenwein, Wirkung von Ammoniumsalzen. 12
—, Pektin- 239
—, Teig-, durch Bact. levans verursacht. 99
Gallen an Escallonia pulverulenta. 123
— durch Angeiomyia spinulosa an Hydrangea scandens. 124
— durch Aphiden an Baccharis rosmarinifolia. 122
—, durch Cecidomyiden an Baccharis rosmarinifolia. 122
— durch Lasioptera monticola an Gymnophyton polycephalum. 123
— durch Lecanium resinatum an Baccharis rosmarinifolia. 122
— durch Oligotrophus eugeniae an Myrteugenia stenophylla. 125
— durch Pernettyella longicornis an Pernettya furcus. 125
— durch Perrisia chilensis an Baccharis rosmarinifolia. 121
— durch Phylliden an Baccharis rosmarinifolia. 122
— durch Scheueria longicornis an Baccharis eupatorioides. 119
— durch Trypetiden an Baccharis eupatorioides. 120
—, neue aus Chile. 119
Gasbildung durch Bacillus levans. 228
— durch Bact. coli commune. 228
— durch Bakterien. 99. 228
Gasteropoden, Schädlinge des Kaffeebaumes. 218
Gelbklee, Impfung. 234
Gemüse, Konservierung durch Erhitzen und Luftabschluß. 226
—, Vorkommen von Bac. botulinus. 227
—, — von Bacillus mirabilis. 227
—, — von Proteus vulgaris. 227
Gentiana lutea, Schädigung durch Stenoptilia lutescens. 259
Gerste, Flugbrand, Bekämpfung. 264
Gift, Bildung durch Aspergillus fumigatus. 229
—, Bildung durch Penicillium glaucum. 229
—, Getreide, Wirkung auf Hefe. 242
Glukoside, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 68
Glykogen, Speicherung durch Bac. amylobacter. 443
Glyzerin, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 65
Goldafter. 254
Gorgonzola, Teigkrankheit durch Oidium lactis. 240
—, Vorkommen von Penicillium. 240
Gracilaria simploniella, Biologie. 260
— —, Schädling an Eichen. 259
Granulobacter butylicum, Identität mit Bac. amylobacter. 389
— —, Stickstoffbindung. 511
— pectinovorum, Identität mit Bac. amylobacter. 389
— —, Stickstoffbindung. 511
Grapholitha nebritana, Schädling von Colutea arborescens. 258
Gras, Wurzeln, Schädigung durch Odonaspis graminis. 254
Gurken, eingesäuerte, Vorkommen von Bact. coli. 241
—, —, — von Bac. mesentericus vulgatus. 241
—, —, — von Bakterien. 241
—, —, Weichwerden durch Bac. atrosepticus. 241
—, —, — durch Bac. sinapiragus. 241
—, —, — durch Bact. vulgare. 241
Gründüngung, Wert gegenüber Brache. 234
Gymnophyton polycephalum, Gallenbildung durch Lasioptera monticola. 123
Harzgallen durch Lecanium resinatum an Baccharis rosmarinifolia. 122
Haustorienbildung von Asterina. 253
— von Meliola. 253
— von Siphonostegia. 249
Hefe, Preßsaft, fraktionierte Fällung. 230
—, Wirkung von Getreidegiften. 242
Heißwasser s. Wasser, heißes.
Hemileia vastatrix, Schädling des Kaffeebaums. 209
Hendersonia Coffeae, Pyknidenform von Anthostomella Coffeae. 205
— —, Schädling des Kaffeebaums. 205
Herzfäule s. Zuckerrübe, Herzfäule.
Hessenfliege s. Mayetiola destructor.
Heterodera radicicola, Schädling des Kaffeebaums. 215
— Schachtii, Zuckerrüben schädigend. 175
Heu, Selbsterhitzung, Ursache und Wesen. 106
Hexenbesenbildung an Prunus Padus. 248
Hypochoeris radicata, Infektionsversuch mit Pucc. Hypochoeridis. 248
Hydrangea scandens, Gallen durch Angeiomyia spinulosa. 124
Hippodamia XIII punctata, Feind von Nectarophora solanifolii. 183
Hirtentäschel s. Capsella bursa pasteris.
Holz, Trockenfäule. 250
—, Zersetzung durch Lenzites. 250
—, — durch Pilze. 250
—, — durch Polyporus vaporarius. 250

Homalomyia canicularis, Zuckerrüben schädigend. 175
Homogyne alpina, Schädigung durch Puccinia conglomerata. 245
Humusstoffe, Wirkung auf Stickstoffbindung von Azotobacter chroococcum. 167
Jambosa, Schädigung durch Loranthus pentandrus. 214
Impferde, Wirkung auf Leguminosen. 374
Impfung, Gelbklee. 234
—, Inkarnatklee. 234
— an Leguminosen, Bedeutung der Nährsalze. 234
Inkarnatklee, Impfung. 234
Insekten, Bekämpfungsmittel, chemische. 268
Insektenfraß, Schutz vor — durch Ammoniumsulfat. 174
Insekten, Verbreitung der Cercospora beticola. 180
—, Verbreitung der Herzfäule der Rüben. 181
Jogen, Speicherung durch Bac. amylobacter. 443
Isolierung einzelner Zellen mit Kapillaren. 223
Kaffeebaum, Blütenzweigdürre. 205
—, Fußkrankheit. 206
—, Krebs, Bekämpfung. 203
—, —, Symptome und Erreger. 200
—, Krebskrankheit. 199
—, Schädigung durch Antennaria setosa. 198. 199
—, — durch Anthostomella Coffeae. 205
—, — durch Aphelenchus Coffeae. 217
—, — durch Aphis Coffeae. 199
—, — durch Armillaria mellea (?). 208
—, — durch Aspergillus atropurpureus. 210
—, — durch Balanophoraceen. 215
—, — durch Capnodium brasiliense. 199
—, — durch Capnodium javanicum. 198. 199
—, — durch Capnodium trichostomum. 199
—, — durch Cephaleuros Coffeae. 212. 213
—, — durch Cephaleuros mycoidea. 210
—, — durch Cephaleuros virescens, Anatomie. 213
—, — durch Cephaleuros virescens, Symptome. 210
—, — durch Cephalobus brevicaudatus. 218
—, — durch Cephalobus longicaudatus. 218
—, — durch Cercospora coffeicola. 197
—, — durch Clusia insignis. 215
—, — durch Clypeolum megalosporum. 197
—, — durch Colletotrichum incarnatum. 197
—, — durch Coniothyrium Coffeae. 197
—, — durch Corticium javanicum. 209
—, — durch Corticium vagum. 203
—, — durch Datylopius Adonidum. 199
—, — durch Dematophora necatrix. 208
Kaffeebaum, Schädiguug durch Diplodia coffeicola. 209
—, — durch Dorylaimus javanicus. 218
—, — durch Enchytreiden. 218
—, — durch Euryachora liberica. 206
—, — durch Fusarium coffeicola. 197
—, — durch Gasteropoden. 218
—, — durch Hemileia vastatrix. 209
—, — durch Hendersonia Coffeae. 205
—, — durch Heterodera radicicola. 215
—, — durch Laestadia coffeicola. 195
—, — durch Lecanium caudatum. 199
—, — durch Lecanium nigrum. 199
—, — durch Lecanium viride. 199
—, — durch Leptosphaeria coffeicola. 198
—, — durch Limacinia coffeicola. 199
—, — durch Loranthus avicularis. 214
—, — durch Loranthus brasiliensis. 214
—, — durch Loranthus orinocensis. 214
—, — durch Loranthus parviflorus. 214
—, — durch Micropeltis Tonduzii. 197
—, — durch Microthyrium Coffeae. 197
—, — durch Milben. 219
—, — durch Mycoidea parasitica. 210
—, — durch Mycosphaerella Coffeae. 198
—, — durch Mycosphaerella coffeicola. 193
—, — durch Necator decretus. 204
—, — durch Nectria coffeicola. 209
—, — durch Nectria fructicola. 209
—, — durch Nectria luteopilosa. 209
—, — durch Nematoden. 215
—, — durch Pestalozzia Coffeae. 209
—, — durch Phoradendron crassifolium. 214
—, — durch Phyllosticta coffeicola. 195
—, — durch Pulvinaria camellicola. 199
—, — durch Pulvinaria Psidii. 199
—, — durch Rhabditis bicornis. 218
—, — durch Rhabdospora Coffeae. 205
—, — durch Ramularia Goeldiana. 197
—, — durch Rostrella Coffeae. 199
—, — durch Rußtaupilze. 198
—, — durch Septoria coffeicola. 197
—, — durch Stilbella flavida. 193
—, — durch Strigula complanata. 212
—, — durch Struthantus marginatus. 214
—, — durch Tetranychus bioculatus. 219
—, — durch Triposporium Gardneri. 199
—, — durch Tylenchus acutocaudatus. 218
—, — durch Tylenchus Coffeae. 218
—, — durch Wurzelkropf. 208
—, — durch Wurzelpilze. 207
—, Spaltkrankheit der Wurzeln. 207
Kakaobaum, Schädigung durch Corticium javanicum. 203
Kalium, Bedeutung für Moosentwickelung. 221
—, — für Stärkebildung. 221
—, Vertretung durch Natrium. 221
Kalk, Düngung auf saurem Boden. 235
—, —, Wirkung auf Leguminosen. 234
—, —, — auf Nitrifikation. 236
—, —, — auf Stickstoffbindung. 236
—, Vorbeugungsmittel gegen Wurzelbrand der Rüben. 178

Kalk, Wirkung auf Tätigkeit von Fäulnisbakterien. 236
Kalkstickstoff, Nitrifikation in verschiedenen Böden. 238
—, Spaltung durch Bacterium erythrogenes. 237
—, Vergleich mit Stickstoffkalk. 236
Karbolineum, Bekämpfungsmittel gegen Blutlaus. 265
—, — gegen Fusicladium. 278
—, Wert des, als Bekämpfungsmittel. 265. 278
Karbolsäure, Bekämpfungsmittel gegen Phoma-Wurzelbrand der Rüben. 178
Kartoffel, Abbau, Ursache. 192
—, Bakterienringkrankheit. 188
—, —, Bekämpfung. 188. 252
—, —, Symptome. 252
—, Blattrollkrankheit, Bedeutung. 183. 185. 186
—, —, Befall verschiedener Sorten. 186
—, —, Bekämpfung. 184. 185. 252
—, — durch Fusarium. 184
—, —, Einfluß des Bodens. 185
—, —, enzymatische Störung. 187
—, —, Identität mit Ringkrankheit. 187
—, —, Symptome. 252
—, —, Verbreitung durch Saatgut. 187
—, Eisenfleckigkeit. 189
—, Knolle, Infektionsversuch mit Fusarium oxysporum. 251
—, Krankheiten der. 252
—, —, Bekämpfung mit Kupferkalkbrühe. 279
—, Krebs, Bedeutung und Bekämpfung. 189
—, — durch Chrysophlyctis endobiotica. 189
—, Nährboden für Bac. amylobacter. 464
—, Ringkrankheit, Identität mit Blattrollkrankheit. 187
—, Schädigung durch Alternaria solani. 192
—, — durch Bacillus phytophthorus. 191
—, — durch Erdfloh. 192
—, — durch Fusarium solani. 190
—, — durch Nectarophora solanifolii. 183
—, — durch Nectria Solani. 190
—, — durch Phytophthora infestans. 190. 192
—, — durch Schorf. 192
—, — durch Spondylocladium atrovirens. 190
—, Schwarzbeinigkeit durch Bakterien. 190
—, Trockenfäule durch Fusarium. 184
—, — durch Fusarium oxysporum. 251
—, Widerstandsfähigkeit verschiedener Sorten gegen Krankheiten. 191
—, Wirkung der Kupfervitriolkalkbrühe auf die Assimilation. 191
—, Zersetzung durch Pilze und Bakterien. 239
Kartoffelblattlaus s. Nectarophora solanifolii.
Kartoffelkäfer. 192
Kartoffelkrebs s. Kartoffel, Krebs.
Kartoffelstärke, Zerstörung durch Aspergillus. 239
Keimung von Aspergillus niger, Bedeutung von Magnesium. 221
— von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen. 240
Kernobst, Schädigung durch Pflanzenläuse. 253
Kleeextrakt, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 70
Knollenfäule s. Phytophthora infestans.
Ko-Enzym, Fällung durch Eisenhydroxyd. 231
—, Trennung von Zymase durch fraktionierte Fällung. 231
Kohlehydrate, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 75
Kohlenstoffverbindungen, Vergärung durch Bac. amylobacter. 467
Kohlweißling, Auftreten in Bayern. 259
Kompositen, Infektionsversuche mit Puccinieen. 247
Kräuselkrankheit der Zuckerrübe, Beschreibung. 181
Krankheiten, parasitäre Pflanzen-, Bekämpfungsmethode. 379
Krautfäule s. Phytophthora infestans.
Kreidekrankheit des Brotes durch Endomyces fibuliger. 229
— des Brotes durch Monilia variabilis. 229
Kresolwasser, Bekämpfungsmittel gegen Phylloxera vastatrix. 277
Kupferkalkbrühe s. a. Bordeauxbrühe.
—, Bekämpfungsmittel gegen Fusicladium. 265. 278
—, — gegen Kartoffelkrankheiten. 192. 279
—, Wirkung auf die Assimilation der Kartoffel. 192
Laestadia coffeicola, Identität mit Mycosphaerella coffeicola. 195
Lasioptera monticola, Gallenbildung an Gymnophyton polycephalum. 124
Lecaniinae, Vorkommen in Indien. 254
Lecanium caudatum, Schädling des Kaffeebaums. 199
— nigrum, Schädling des Kaffeebaums. 199
— resinatum, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia. 122
— viride, Schädling des Kaffeebaums. 199
Leguminosen, Impfung, Bedeutung der Nährsalze. 234
—, — mit Nitragin. 376
—, — mit Nitro-Bakterien von Bottomley. 375
—, Wirkung des Extraktes auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 72
—, — von Impferde. 374
Lenzites, Vorkommen im Holz. 250
Leontodon hispidus, Infektion mit Pucc. Leontodontis. 248
Leptosphaeria coffeicola, Schädling des Kaffees. 198
Leucit, Lösung durch Aspergillus niger. 239
—, Lösung durch Penicillium brevicaule. 239

Leuconostoc mesenteroides, Identität mit Streptococcus mesenteroides. 227
— —, Vorkommen im Rübensaft. 227
Licht, Wirkung auf Wachstum von Bakterien. 345
Limacinia coffeicola, Schädling des Kaffeebaums. 199
Lopus gothicus, Zuckerrüben schädigend. 175
Loranthus avicularis, Schädling des Kaffeebaums. 214
— brasiliensis, Schädling des Kaffeebaums. 214
— orinocensis, Schädling des Kaffeebaums. 214
— parviflorus, Schädling des Kaffeebaums. 214
— pentandrus, Schädling von Artocarpus. 214
— —, — von Citrus. 214
— —, — von Jambosa. 214
— —, — des Kaffeebaums. 214
— —, — von Myristica moschata. 214
— —, — von Tectoria grandis. 214
Lunularia rediviva, Schädigung durch Pionea decrepitalis. 259
Lygaeus equestris, Zuckerrüben schädigend. 175
Lygus campestris, Zückerrüben schädigend. 175
— pratensis, Zuckerrüben schädigend. 175
Lysol, Bekämpfungsmittel gegen Phylloxera vastatrix. 277
Magnesium, Bedeutung für Chloroplasten. 221
—, — für Keimung von Aspergillus niger. 221
—, — für Oelbildung bei Vaucheria. 221
—, Giftwirkung aufgehoben durch Calcium. 221
Maikäfer s. a. Engerlinge.
— s. a. Melolontha.
Mangifera indica, Schädigung durch Cephaleuros. 210
Margarodinae, Vorkommen in Indien. 254
Mayetiola destructor, Auftreten im Jahre 1908. 109
— —, Biologie und Morphologie. 109
Mehl, Vorkommen von Bakterien. 228
Mehlteig, Vorkommen von Bac. levans. 228
—, — von Bact. coli commune. 228
Mehlteiggärung s. Gärung, Mehlteig-.
Meliola, Haustorienbildung. 253
Melolontha hippocastani, Vorkommen. 258
— vulgaris, Vorkommen. 258
Mesentericus-Gruppe, Pektingärung. 239
Methangärung der Cellulose. 301
Micrococcus candicans, Vorkommen im Wasser. 137
— cinnabarinus, Vorkommen im Wasser. 137
— lutosus, Vorkommen im Wasser. 133
— stellatus, Vorkommen im Wasser. 134
— violaceus, Vorkommen im Wasser. 129
Micropeltis Tonduzii, Schädling des Kaffees. 197
Microthyrium Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 197
Mikrolepidopteren, Schädlinge. 258
—, Vorkommen in der Schweiz. 258
Mikroidien von Bac. amylobacter. 444
Mikroorganismen, Erblichkeit. 222
—, Züchtung konstanter Rassen. 222
Mikrophotographie, Leitfaden. 279
Milben, Schädlinge des Kaffeebaums. 219
Milbenspinne s. Tetranychus telarius.
Milch, Bakteriengehalt, Bestimmungsmethoden. 281
—, Gärprobe. 281
—, Vorkommen von Bacillus aërogenes. 772
—, — von Bacillus coli. 772
—, — von Bakterien. 768. 772
Milchsäurebakterien, s. Bakterien, Milchsäure-.
Mistel s. a. Viscum.
— auf Fichte. 248
Mitose, Bedeutung von Phosphaten. 221
Molekulargewicht, Beziehung zu Wuchsformen. 1
Monilia variabilis, Vorkommen an Brot. 229
Monophlebinae, Vorkommen in Indien. 254
Moorboden, Wirkung auf die Entwickelung verschiedener Pflanzen. 235
Moos, Entwickelung, Bedeutung des Kalium. 221
—, Kultur in unvollständigen Nährlösungen. 221
Mucor ambiguus, Vorkommen an Brot. 229
— de Baryanus, Vorkommen an Brot. 229
— mucedo, Entwickelung auf gebrauchter Nährlösung. 241
— plumbeus, Vorkommen an Brot. 229
Mutation bei Bac. coli communis. 223
— bei Saccharomyces anomalus. 222
Mycoderma, Ameisensäurebildung. 10
—, Wirkung auf Bacillus caseï ε. 35
Mycoidea parasitica, Identität mit Cephaleuros virescens. 212
— —, Schädling des Kaffeebaums. 210
Myristica moschata, Schädigung durch Loranthus pentandrus. 214
Mycosphaerella Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 198
— coffeicola, Schädling des Kaffeebaums, Verbreitung. 193
Myrteugenia stenophylla, Galle durch Oligotrophus eugeniae. 125
Mytidaspis pomorum, Biologie. 253
Myxomonas Betae, Zuckerrüben schädigend. 180
Nährstoffe, Bedeutung einzelner — für die Entwickelung verschiedener Organismen. 221
Nährboden, Einfluß auf Bakterienzählung. 572
—, Wirkung auf Entwickelung von Bac. amylobacter. 461
—, Wirkung auf die Sporenbildung von Bac. amylobacter. 462
Nährlösung, gebrauchte, Wirkung auf Schimmelpilze. 240
Natrium, Ersatz für Kalium. 221

Natron, benzolsaures, Konservierung von Fleisch. 225
Natronsalpeter, Wirkung auf die Bodenreaktion. 235
Necator decretus, Schädling des Kaffeebaums. 204
— —, — des Teestrauches. 205
— —, — von Bixa orellana. 205
Nectarophora solanifolii, Kartoffeln schädigend. 183
— —, natürliche Feinde. 183
— —, Ueberwinterung auf Capsela bursa posteris. 183
Nectria coffeicola, Schädling des Kaffeebaums. 209
— fructicola, Schädling des Kaffeebaums. 209
— luteopilosa, Schädling des Kaffeebaums. 209
— Solani, Kartoffeln schädigend. 190
Nematoden, Schädlinge des Kaffeebaums. 215
Nematus abietum, Fraßbeschädigung an Fichtentrieben. 254
Nitragin, Impfung der Leguminosen. 376
—, Wert. 378
Nitrifikation des Kalkstickstoffs in verschiedenen Böden. 238
—, Wirkung der Kalkdüngung. 236
Nitro-Bacterine, von Bottomley, Impfung der Leguminosen. 375
Obstbäume, Bekämpfung der Krankheiten. 266
—, Schädigung durch Eulecanium nigrofasciatum. 254
Obstwein, Vergärung, Wirkung von Ammoniumsalzen. 12
Odonaspis graminis, Schädling an Graswurzeln. 254
Oel, Bildung bei Vaucheria, Bedeutung von Magnesium. 221
Oidium aureum, Farbbildung. 229
— aurantiacum, Farbbildung. 229
— —, Vorkommen an Brot. 229
— lactis, Teigkrankheit des Gorgonzola. 240
Oligotrophus eugeniae, Gallenbildung an Myrteugenia stenophylla. 125
Opius nitidulator, natürlicher Feind von Anthomyia conformis. 175
Orthotylus flavosparsus, Schädling der Zuckerrübe. 175
Oxalat, Bedeutung für Wurzelbrand der Rüben. 177
Oxydation durch Schimmelpilze. 233
Pektingärung s. Gärung, Pektin-.
Penicillium, Vorkommen im Gorgonzola. 240
— brevicaule, Lösung von Leucit. 239
— glaucum, Bildung von Styrol aus Zimtsäure. 241
— —, Giftbildung. 229
— —, Oxydation durch. 233
— italicum, Bekämpfung. 383
— olivaceum, Wachstumshemmung durch Stoffwechselprodukte. 383
Pentatoma baccarum, Zuckerrüben schädigend. 175
— juniperum, Zuckerrüben schädigend. 175
— prasinum, Zuckerrüben schädigend. 175
Pepton, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 70
Pernettya furens, Gallen durch Pernettyella longicornis. 125
Pernettyella longicornis, Gallenbildung an Pernettya furens. 126
Peronospora, Bekämpfung. 265
Perrisia chilensis, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia. 121
Pestalozzia Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 209
— uvicola, Schädling des Weinstockes. 264
Petroleum, Bekämpfungsmittel gegen Phylloxera vastatrix. 277
Pflanzenläuse auf Kernobst. 253
Pflanzenreste, Zersetzung durch Bakterien. 239
—, Zersetzung durch Pilze. 239
Pholidoptera Chabrieri, Feind von Barbitistes Oczkayi. 257
Phoma Betae, Vorkommen an Rübensaat. 176
— —, Zuckerrüben schädigend. 176
Phosphate, Bedeutung für Mitose. 221
—, Bedeutung für Stärkeumwandlung. 221
Phoradendron crassifolium, Schädling des Kaffeebaums. 214
Phycita Coronatella, Schädling von Acer campestre. 259
Phyllosticta coffeicola, Schädling des Kaffeebaums. 195
Phylloxera, Widerstandsfähigkeit einiger Rebenarten. 270
— quercus, Biologie. 276
— vastatrix, Bekämpfung mit Kresolwasser. 277
— —, — mit Lysol. 277
— —, — mit Petroleum. 277
— —, Biologie. 271
Phytophthora infestans, Bekämpfung. 190
— —, Kartoffeln schädigend. 190. 192
Piesma capitata, Zuckerrüben schädigend. 175
Pilze, Zersetzung von Pflanzenresten. 239
—, Vorkommen im Holz. 250
Pionea decrepitalis, Schädling von Lunularia rediviva. 259
Pistillaria flavida, Identität mit Stilbella flavida. 195
Pithyopsis, Untersuchung. 244
Plasmopara, Bekämpfung durch Cucasa. 266
—, — durch Schwefelazorin. 265
—, — durch Tenax. 265
—, Bekämpfungsmittel. 266
Plattenzählmethode, Bakterien. 576
Poeciloscytus cognatus, Zuckerrüben schädigend. 175

Poeciloscytus vulneratus, Zuckerrüben schädigend. 175
Polychrosis bicinctana, Schädling von Allium. 259
— —, Schädling von Sedum maximum. 259
Polyporus vaporarius, Vorkommen in Holz. 250
Porthesia chrysorrhoea. 253
Proteus vulgaris, Einfluß auf Pflanzenentwickelung. 735
— —, Vorkommen in verdorbenem Gemüse. 227
Prunus Padus, Hexenbesenbildung. 248
Pseudomonas destructans, Bekämpfung. 379
Psylliden, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia. 122
Puccinia conglomerata, Schädling von Homogyne alpina. 245
— Hypochoeridis, Spezialisation. 248
— Leontodontis, Spezialisation. 248
Puccinieen, Infektionsversuche. 247
Pulvinaria camellicola, Schädling des Kaffeebaums. 199
— Psidii, Schädling des Kaffeebaums. 199
Pyrrhocoris apterus, Zuckerrüben schädigend. 175
Pythium de Baryanum, Zuckerrüben schädigend. 176
Quercus s. a. Eiche.
— densiflora, Schädigung durch Aspidiotus densiflorae. 254
— lobata, Schädigung durch Aspidiotus yulupae. 254
Ramularia Goeldiana, Schädling des Kaffeebaumes. 197
Rauch, Zuckerrüben schädigend. 183
Reservestoffe von Bac. amylobacter. 443
Rhabditis bicornis, Schädling des Kaffeebaumes. 218
Rhabdospora Coffeae, Schädling des Kaffeebaumes. 205
Rhizopus nodosus, Vorkommen an Brot. 229
Rhodochytrium spilanthidis, Schädling von Ambrosia artemisiaefolia. 243
— —, Schädling von Spilanthes. 243
Ringkrankheit s. Kartoffel, Ringkrankheit.
Rostrella Coffeae, Aehnlichkeit mit Thielaviopsis ethaceticus. 203
— —, Bekämpfung. 203
— —, Infektionsversuche. 202
— —, Schädling des Kaffeebaumes. 199
— —, systematische Stellung. 202
Rostpilze, Infektionsversuche. 245. 247
Rotlauf, Schweine-, Virulenz der Erreger. 224
Rotwild, Schälbeschädigung. 261
Runkelfliege s. Anthomyia conformis.
Rußtaupilze auf Kaffeebäumen. 198
Russula-Arten, Systematik. 243
Rüben, Vorkommen von Bakterien. 379
Rübennematode s. Heterodera Schachtii.
Rübensaat, Desinfektion, Wert derselben gegen Wurzelbrand. 176
—, Wertbestimmung. 177
Rübensaft, Schleimbildung durch Leuconostoc mesenteroides. 227
—, — durch Streptococcus mesenteroides. 227
—, Vorkommen von Bacterium gelatinosum betae. 227
—, — von Bacterium pediculatum. 227
—, — von Bacillus viscosus sacchari. 228
—, — von Clostridium gelatinosum. 227
—, — von Semiclostridium. 228
Rübenwurzelbrand s. Wurzelbrand.
Rüsselkäfer, Zuckerrüben schädigend. 173
Saatgutbehandlung gegen Wurzelbrand der Rüben mit heißem Wasser. 178
— — — der Rüben mit Karbolsäure. 178
Saatkrähen, Zuckerrüben schädigend. 173
Saccharomyces anomalus, Mutation. 222
— —, Rassenbildung. 222
— —, Sporenbildung. 222
Säure, Bildung durch Bac. amylobacter. 531
—, Boden-, Wirkung auf die Entwickelung von Buchweizen. 235
—, —, — auf die Entwickelung von Senf. 235
—, —, — auf die Entwickelung von Zuckerhirse. 235
—, schweflige, Konservierung von Fleisch. 225
Salpeter, Natron-, Wirkung auf die Reaktion des Bodens. 235
—, Wirkung auf leichten Böden. 234
Salz, Lösung, Wirkung auf Schweinerotlaufbakterien. 224
Salze, organische Säuren, Wirkung auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 62
Saprolegnia, Antheridienbildung, Wirkung anorganischer Salze. 244
—, Kultur. 244
— hypogyna, Untersuchung. 244
— mixta, Untersuchung. 244
Sauerstoff, Spannung, Widerstandsfähigkeit der Sporen von Bac. amylobacter gegen hohe — 474
—, —, Wirkung auf Sporenbildung von Bac. amylobacter. 456. 458
—, —, — auf Sporenkeimung von Bac. amylobacter. 453. 458
—, Wirkung auf Wachstum von Bakterien. 349
Sauerteig, Aufgehen durch gasbildende Bakterien. 99
Sauerteiggärung, abnormale. 105
Scatopse pulicaria, Schädling der Zuckerrübe. 176
Scheidenschlamm, Wirkung auf Herzfäule der Rüben. 180
Scheueria longicorneis, Gallenbildung an Baccharis eupatorioides. 120
Schimmeln des Brotes. 229
Schildkäfer s. Cassida.
Schimmelpilze, Entwickelung, Wirkung gebrauchter Nährlösung. 240
—, Keimung, Wirkung gebrauchter Nährlösung. 240
—, Oxydation durch — 233
Schizoneura lanigera, Biologie. 253

Schlamm, Vorkommen von Bakterien. 400
Schleimbildung durch Bacillus viscosus sacchari. 228
— durch Bacterium gelatinosum betae. 227
— durch Bacterium pediculatum. 227
— durch Leuconostoc mesenteroides. 227
— durch Streptococcus mesenteroides. 227
Schleimigwerden des Brotes. 229
Schnecken s. Gasteropoden.
Schnellfiltration für Wasserversorgung. 279
Schorf der Kartoffel. 192
Schoßrüben s. Zuckerrübe, Schossen.
Schwarzbeinigkeit s. Kartoffel, Schwarzbeinigkeit.
Schwefelazorin, Bekämpfungsmittel gegen Plasmopara. 265
Schwefelcalcium, Bekämpfungsmittel gegen Stilbella coffeicola. 196
Schwefelkohlenstoff, Bekämpfungsmittel gegen Termiten. 256
Schwefel und Arsenik, Dämpfe gegen Termiten. 257
Sclerochloa dura, Schädigung durch Uredo Sclerochloae. 246
Sedum maximum, Schädigung durch Polychrosis bicinctana. 259
Seesand, Vorkommen von Bakterien. 400
Selbsterhitzung des Heues, Ursache und Wesen. 106
Semiclostridium, Vorkommen im Rübensaft. 228
Senf, Entwickelung in saurem Boden. 235
Septoria coffeicola, Schädling des Kaffeebaumes. 197
Sinnesorgane, Bedeutung bei Einzellern. 221
Siphonostegia, Haustorienbildung. 249
Sirphus, Larven, Feinde von Nectarophora solanifolii. 183
Sklerotienkrankheit der Zuckerrübe. 181
Sorbus aucuparia, Schädigung durch Argyresthia conjugella. 259
Spaltkrankheit der Wurzeln des Kaffeebaumes. 207
Spezialisation der Uredineen. 246
Spilantes, Schädigung durch Rhodochytrium spilanthidis. 243
Spirillum subtilissimum, Vorkommen im Wasser. 136
Spondylocladium atrovirens, Kartoffeln schädigend. 190
Sporangien, von Bac. amylobacter. 437
Sporenbildung von Bacillus amylobacter, Wirkung des Nährbodens. 462
— von Bacillus anthracis. 293
— von Bacillus nitri. 291
— von Bakterien. 222. 291. 293. 341. 348. 351. 456. 458. 462. 605.
— von Bakterien, Wirkung äußerer Bedingungen. 341. 348. 351. 456. 458. 462. 610. 611.
— von Bakterien, Wirkung der Bodenfeuchtigkeit. 610
— von Bakterien, Wirkung des Nährbodens. 462
Sporenbildung von Bakterien, Wirkung der Sauerstoffspannung. 456. 458
— von Bakterien, Wirkung der Temperatur. 611
— von Bodenbakterien. 605
— von Saccharomyces anomalus. 222
Sporenkeimung von Bac. amylobacter. 435
— von Bakterien. 453. 458
Sporotrichum radicolum, Schädling des Kaffeebaumes. 207
Stärke, Bildung aus Formaldehyd. 233
—, Bildung, Bedeutung des Kalium. 221
—, Kartoffel-, Zerstörung durch Aspergillus. 239
—, Umwandlung, Bedeutung der Phosphate. 221
Stärkebildung s. Stärke, Bildung.
Stalldünger, Wirkung von Karbolineum. 263
Stenoptilia lutescens, Schädling von Gentiana lutea. 259
Stickstoff, Bindung durch Azotobacter chroococcus, Reinkultur und Rohkultur. 161
—, — durch Azotobacter chroococcum, Wirkung von Humusstoffen. 167
—, — durch Bac. amylobacter. 41
—, — durch Bac. amylobacter. 478. 511
—, — durch Bac. asterosporus. 45
—, — durch Bac. megatherium. 784
—, — durch Bac. mycoides. 784
—, — durch Bac. saccharobutyricus. 511
—, — durch Bac. subtilis. 784
—, — durch Bakterien. 41. 45. 161. 167. 235. 355. 478. 487. 493. 511. 672. 784.
—, — durch Bakterien im Boden. 355
—, — durch Bakterien in Lösungen. 355
—, — durch Granulobacter butylicum. 511
—, — durch Granulobacter pectinovorum. 511
—, — quantitative Versuche mit Bac. amylobacter. 493
—, — Regeneration des Vermögens bei Bac. amylobacter. 235. 487
—, — Steigerung durch Kalkdüngung. 236
—, Düngung, Reaktionsänderung des Bodens. 235
Stickstoffkalk, Vergleich mit Kalkstickstoff. 236
Stickstoff, Bindung, Verlust des Vermögens bei Bac. amylobacter. 481
—, Luft-, Bindung durch Clostridium Americanum. 300
Stilbella flavida, Bekämpfung. 196
— —, Beziehung zu Mycosphaerella coffeicola. 194
— —, Identität mit Pistillaria flavida. 195
— —, Infektionsversuche. 195
— —, Kultur. 195
— —, Schädling des Kaffeebaumes, Verbreitung. 193
— —, systematische Stellung. 194. 195
Stoffwechselprodukte als Bekämpfungsmittel. 379
Streptococcus mesenteroides, Schleimbildung im Rübensaft. 227

Strigula complanata, Schädling des Kaffeebaumes. 212
Struthantus marginatus, Schädling des Kaffeebaumes. 214
Styrol, Bildung aus Zimtsäure durch Aspergillus niger. 241
—, — aus Zimtsäure durch Penicillium glaucum. 241
Subtilis-Gruppe, Pektingärer. 239
Tachardinae, Vorkommen in Indien. 254
Tectona grandis, Schädigung durch Loranthus pentandrus. 214
Teiggärung s. Gärung, Teig—.
Teigkrankheit des Gorgonzola durch Oidium lactis. 240
Temperatur, Einfluß auf Bakterienzahl im Boden. 594
—, — auf Sporenbildung. 611
—, Wirkung auf Bakterien. 346. 447
—, — auf Bac. amylobacter. 452
—, — auf Schossen der Rüben. 182
—, Widerstandsfähigkeit der Sporen von Bac. amylobacter gegen hohe. 471
—, — der Sporen von Bac. asterosporus gegen hohe. 471
Tenax, Bekämpfungsmittel gegen Plasmopara. 265
Termiten, Bekämpfung mit Dämpfen von Schwefel und Arsenik. 257
—, — mit Schwefelkohlenstoff. 256
—, Biologie. 255
Tetranychus bioculatus, Schädling des Kaffeebaums. 219
— telarius, Zuckerrüben schädigend. 175
Thalictrum foetidum, Schädigung durch Exapate ignotella. 259
Thea chinensis s. Teestrauch.
Teestrauch, Schädigung durch Cephaleuros virescens. 210
—, — durch Corticium javanicum. 203
—, — durch Necator decretus. 205
Theobroma Cacao s. Kakaobaum.
Therapha hyoscymni, Zuckerrüben schädigend. 175
Thiclaviopsis ethaceticus, Aehnlichkeit mit Rostrella Coffeae. 203
Thyphula variabilis, Zuckerrüben schädigend. 181
Tibicen septendecim, Vorkommen in Amerika. 257
Toxin von Pseudomonas destructans. 379
Trinkwasser s. Wasser, Trink-.
Triposporium Gardneri, Schädling des Kaffeebaums. 199
Trockenfäule s. Zuckerrübe, Trockenfäule.
— des Holzes. 250
— der Kartoffel durch Fusarium oxysporum. 251
Tylenchus Coffeae, Schädling des Kaffeebaums. 218
— acutocaudatus, Schädling des Kaffeebaums. 218
Trypetiden, Gallenbildung an Baccharis eupatorioides. 120
Ugulina fomentaria, Bildung des Receptaculum. 253
Ugulina pinicola, Bildung des Receptaculum. 252
Uredineen, Spezialisation, Ursache. 246
—, Vorkommen in Frankreich. 245
—, Wirtswechsel, Entstehung. 246
Uredo Coleanthi, Schädling von Coleanthus subtilis. 246
— Sclerochloae, Schädling von Sclerochloa dura. 246
Ureum, Spaltung durch Bakterien. 94
Urobacillus jakschii. 97
Uromyces betae, Schädling der Zuckerrübe. 181
—, Systematik. 245
— Veratri, Beziehung zu Aecridium Homogynes. 245
— —, Infektionsversuch. 245
— —, Schädling von Homogyne alpina. 245
Vanille, Schädigung durch Cephaleuros Henningsii. 210
Vaucheria, Oelbildung, Bedeutung von Magnesium. 221
Vicia faba, Wirkung des Extraktes auf Bakteroidenbildung bei Bac. radicicola. 71
Viscum minimum, Schädling von Euphorbia polygona. 248
Wärme, Wirkung auf Sporenkeimung bei Bakterien. 347
—, Wirkung auf Wachstum von Bakterien. 346
Wanderheuschrecke, Bekämpfung. 257
—, Vorkommen in Argentinien. 257
Wasser, heißes, Bekämpfung des Flugbrandes von Weizen und Gerste. 265
—, —, Bekämpfungsmittel gegen Phoma-Wurzelbrand der Rüben. 178
Wasserbacillus, goldgelber s. Bac. chryseus.
Wasser-, Trink-, bakteriologische Untersuchung. 126
—, Vorkommen von Bakterien. 126. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137
Weichwerden eingesäuerter Gurken s. Gurken, eingesäuerte, Weichwerden.
Wein, Obst-, s. Obstwein.
—, Vergärung, Wirkung von Ammoniumsalzen. 12
Weinstock, Schädigung durch Botrytis cinerea. 263
—, — durch Cytispora ampelina. 264
—, — durch Colletotrichum Vitis. 263
—, — durch Pestalozzia uvicola. 264
—, — durch Phylloxera vastatrix. 271. 273
—, Weißfäule, Bekämpfung. 263
—, Widerstandsfähigkeit gegen Phylloxera. 270
Weißfäule des Weinstockes, Bekämpfung. 263
Weizen, Flugbrand, Bekämpfung. 264
Wind, Verbreitung von Cercospora beticola. 180
—, Verbreitung der Herzfäule der Rüben. 181
Witterung, Bedeutung für Herzfäule der Zuckerrüben. 179
—, Einfluß auf Blattrollkrankheit der Kartoffel. 184

Wirtswechsel der Uredineen, Entstehung. 246
Wurzelbrand, Desinfektion der Rübensaat. 176
— der Rüben, Bekämpfung. 178
— der Rüben, Bekämpfung mit heißem Wasser. 178
— der Rüben, Bekämpfung mit Kalkdüngung, vorbeugend. 178
— der Rüben, Bekämpfung mit Karbolsäure. 178
— der Rüben, Bekämpfung mit Kupfervitriol. 178
— der Rüben, Bedeutung der Oxalate. 177
—, Vorkommen der Erreger des — der Rüben. 176
Wurzelkropf des Kaffeebaums. 208
Wurzelpilz, brauner, Schädling des Kaffeebaums. 207
—, schwarzer, Schädling des Kaffeebaums. 207
Zersetzung der Pflanzenreste s. Pflanzenreste, Zersetzung.
Zimtsäure, Bildung von Styrol aus — durch Aspergillus niger. 241
—, — von Styrol aus — durch Penicillium glaucum. 241
Zuckerhirse, Entwickelung, Wirkung von saurem Boden. 235
Zuckerrübe, Beinigkeit, durch Versetzen. 181
—, Blattfleckenkrankheit durch Cercospora beticola. 180
—, Herzfäule, Bedeutung der Vorfrucht. 174
—, —, Bedeutung der Witterung. 179
—, —, Bekämpfung. 179
—, —, Verbreitung durch Wind. 181
—, Schädigung durch Adelphocoris lineolatus. 175
—, — durch Anthomyia conformis. 174
—, — durch Aphanomyces laevis. 176
—, — durch Bac. mycoides. 177
—, — durch Campilomma verbasci. 175
—, — durch Corpocoris fuscispincy. 175
—, — durch Cassida nobilis. 174
Zuckerrübe, Schädigung durch Cercospora beticola. 180
—, — durch Engerlinge. 173
—, — durch Eurydema oleraceum. 175
—, — durch Eurygaster maurus. 175
—, — durch Flugasche. 183
—, — durch Heterodera Schachtii. 175
—, — durch Homalomyia canicularis. 175
—, — durch Kräuselkrankheit. 181
—, — durch Lopus gothicus. 175
—, — durch Lygaeus equestris. 175
—, — durch Lygus campestris. 175
—, — durch Lygus pratensis. 175
—, — durch Myxomonas Betae. 180
—, — durch Orthotylus flavosparsus. 175
—, — durch Pentatoma baccarum. 175
—, — durch Pentatoma prasinum. 175
—, — durch Phoma Betae. 176
—, — durch Piesma capitata. 175
—, — durch Poeciloscytus cognatus. 175
—, — durch Poeciloscytus vulneratus. 175
—, — durch Pyrrhocoris apterus. 175
—, — durch Pythium de Baryanum. 176
—, — durch Rauch. 183
—, — durch Rüsselkäfer. 173
—, — durch Saatkrähen. 173
—, — durch Scatopse pulicaria. 175
—, — durch Sklerotienkrankheit. 181
—, — durch Tetranychus telarius. 175
—, — durch Therapha hyoscymni. 175
—, — durch Thyphula variabilis. 181
—, — durch Uromycos betae. 181
—, — durch Wurzelbranderreger. 176
—, Schossen der —, Wirkung des Schälens der Samen. 183
—, Schossen der —, Wirkung der Temperatur. 182
—, Trockenfäule, Bekämpfung mit Chlor. 181
—, — durch Phoma Betae. 179
—, Wurzelbrand s. a. Wurzelbrand.
—, —, Bekämpfung mit Chlor. 180
—, Züchtung schoßfreier Rassen. 182. 183
Züchtung konstanter Rassen von Mikroorganismen. 222
Zymase, Trennung von Ko-Enzym durch fraktionierte Fällung. 231

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Angeiomyia spinulosa, Gräte (Fig. 5). 125
Anthostomella Coffeae, Asci und Ascosporen (Fig. 29). 206
— —, Perithecium (Fig. 28 A). 206
Aphelenchus olesistus, Ei mit Embryo (Taf. I, Fig. 3). 660
— —, Schädling von Chrysanthemum, Krankheitsbild (Taf. I, Fig. 1 u. 2). 660
— —, Schädling von Chrysanthemum, Schema des Krankheitsbildes. 662
Apparatur zur Kultivierung der Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen (Fig. 7 u. 8). 421
Apparat zur Kultivierung im Stickstoffstrom (Fig. 12 u. 13). 494
— zur Sterilisation von Komposterde. 669
Baccharis eupatorioides, Gallenbildung (Fig. 2). 121
— —, Gallenbildung durch Scheueria longicornis. 120
— rosmarinifolia, Gallenbildung durch Perrisia chilensis (Fig. 3). 121

Bacillus amylobacter, anormale Formen (Taf. II, Fig. 1—37). 568
— —, Entwickelung, Schema. 438
— —, Sporangien- und Sporenbildung (Taf. I). 568
— —, Sporengröße auf verschiedenen Nährböden (Taf. V u. VI). 430
— —, Sporengröße (Variationskurve). 429
— —, Sporengröße verschiedener Stämme, graphische Darstellung (Taf. III u. IV). 426
— dendroides, Agarplattenkolonie. 332
— —, Involutionsformen. 341
— effusus, Involutionsformen. 341
— —, Randstück einer Agarplattenkolonie. 324
— mycoides, Agarplattenkolonie (Fig. 3, 9, 11, 13). 311. 318. 320. 322
— —, Entstehung einzelner Verzweigungen. 313
— —, Keimung (Fig. 1, 6, 8). 309. 316. 317
— —, Involutionsformen. 341
— —, Koloniebildung. 310
— —, Randstück einer Agarplattenkolonie (Fig. 4, 7, 10, 12, 22). 312. 316. 318. 320. 339
— nanus, Agarplattenkolonie. 330
— —, Involutionsformen. 341
— nitri, Chromiolenstruktur (Fig. 1—6 u. 8). 299
— olfactorius, Agarplattenkolonie (Fig. 17—19). 327. 328
— —, Involutionsformen. 341
— —, Keimung (Fig. 15). 326
— —, Randstück einer Agarplattenkolonie (Fig. 16). 326
— radicicola, Bakteroidenbildung in den Knöllchen. 85
— —, Bakteroidenbildung auf verschiedenen Substraten. 63. 65. 67. 69. 74. 78. 80. 83
Bakterien, Wuchsformen der Kolonieen, Schema. 3. 4. 5. 8. 10
Bakterienzahl im Boden, Abhängigkeit von der Niederschlagsmenge. (Kurve.) 590. 591. 592. 593
Bakteroiden von Bac. radicicola, Bildung in den Knöllchen. 85
— von Bac. radicicola, Bildung auf verschiedenen Substraten. 63. 65. 67. 69. 74. 78. 80. 83
Begleitbacillus von Bacillus amylobacter (Taf. II A). 568
Cephaleuros virescens im Querschnitt des Kaffeebaumblattes (Fig. 31 u. 34). 211. 213
— —, Sporangium (Fig. 32 C u. 33). 211. 213
— —, Sporangiumträger (Fig. 32 A u. B). 211
Chrysanthemum, Schädigung durch Aphelenchus olesistus, Krankheitbild (Taf. I, Fig. 1 u. 2). 660
Coniothecium arachideum, Coniothecienbildung (Taf. III, Fig. 9—12). 653
— —, Mycel (Taf. II, Fig. 5). 652
Coniothecium arachideum, Wachstum (Taf. I, Fig. 1—4; Taf. II, Fig. 6—8). 652
Corticium javanicum Hymenium. 204
Gärung von Traubenwein, Wirkung von Ammoniumkarbonat (Kurven). 30
— von Traubenwein, Wirkung von Chlorammonium (Kurven). 28
Gallen an Baccharis eupatorioides (Fig. 2). 121
— durch Heterodera radicicola an Kaffeebaumwurzel (Fig. 35). 216
— durch Oligotrophus eugeniae an Myrteugenia stenophylla (Fig. 6). 125
— durch Pernettyella longicornis an Pernettya furens (Fig. 7). 125
— durch Perrisia chilensis an Baccharis rosmarinifolia (Fig. 3). 121
— durch Scheueria longicornis an Baccharis eupatorioides. 120
Hendersonia Coffeae, Konidien (Fig. 30). 206
— —, Pyknide (Fig. 28 B). 206
Heterodera radicicola, Cyste (Fig. 37). 216
— —, Ei (Fig. 38). 216
— —, Weibchen (Fig. 36). 216
— —, Wurzelanschwellung am Kaffeebaum (Fig. 35). 216
Impferde, Wirkung auf Lupinen (Taf. I, Fig. 4; Taf. II, Fig. 7). 376
Kaffeebaum, Blattflecken durch Mycosphaerella coffeicola (Fig. 13). 194
—, Blattflecken durch Stilbella flavida (Fig. 13). 194
—, Blattquerschnitt mit Cephaleuros virescens (Fig. 31 u. 34). 211. 213
—, Frucht, befallen von Stilbella flavida (Fig. 14). 194
—, Rindenzellen mit Mycel von Rostrella Coffeae (Fig. 19). 200
—, Wurzelanschwellung durch Heterodera radicicola (Fig. 35). 216
Kulturmanometer (Fig. 4). 413
Kulturvakuum nach Arth. Meyer. 411
—, Block zum Oeffnen (Fig. 3). 412
—, Tubus mit Hahnstopfen (Fig. 2). 412
Lasioptera monticola, Gräte. 123
Lupinen, ungeimpft (Taf. I, Fig. 1). 376
—, Wirkung von Impferde (Taf. I, Fig. 4; Taf. II, Fig. 7). 376
—, Wirkung von Nitragin (Taf. I, Fig. 3). 376
—, Wirkung von Nitrobacterine (Taf. I, Fig. 2). 376
—, Wurzelentwickelung in saurem Boden (Taf. I, Fig. 5; Taf. II, Fig. 6). 376
Muskelkern (Fig. 7). 299
Mycosphaerella coffeicola, Ascus und Ascospore (Fig. 15). 194
— —, Blattflecken am Kaffeebaum (Fig. 13). 194
Myrteugenia stenophylla, Gallenbildung durch Oligotrophus eugeniae (Fig. 6). 125
Niederschlagsmenge, Einfluß auf Bakterienzahl im Boden (Kurve). 590. 591. 592. 593

Nitragin, Wirkung auf Lupinen (Taf. I, Fig. 3). 376

Nitrobacterine, Wirkung auf Lupinen (Taf. I, Fig. 2). 376

Oligotrophus eugeniae, Gallenbildung an Myrteugenia stenophylla (Fig. 6). 125

Pernettya furens, Gallenbildung durch Pernettyella longicornis (Fig. 7). 125

Pernettyella longicornis, Gallenbildung an Pernettya furens (Fig. 7). 125

Perrisia chilensis, Gallenbildung an Baccharis rosmarinifolia (Fig. 3). 121

Phyllosticta (?) an Stilbella-Flecken des Kaffeebaumes, Fruchtkörper (Fig. 16). 195

Preßgasapparat. 422

Pseudomonas destructans im Rübenquerschnitt. 382

Quecksilbermanometer (Fig. 5). 413

Rostrella Coffeae, Ascosporen (Fig. 24 u. 25). 202

Rostrella Coffeae, Mikrokonidien (Fig. 20 u. 22). 200. 201

— —, Mycel (Fig. 21). 201

— —, Mycel im Gewebe von Coffea arabica (Fig. 19). 200

— —, Perithecien (Fig. 23 u. 26). 201. 202

Rübe, Querschnitt, Zerstörung durch Pseudomonas destructans. 382

Scheueria longicornis, Gallenbildung an Baccharis eupatorioides. 120

Sterilisation von Komposterde, Apparat. 669

Stilbella flavida, Blattflecken am Kaffeebaum (Fig. 13). 194

— —, Coremiumköpfchen (Fig. 17 u. 18). 195. 196

— —, Schädling an Kaffeefrucht (Fig. 14). 194

T-Rohr mit Glashahn. 414

Tylenchus Coffeae, Ei (Fig. 39). 218

— —, Weibchen (Fig. 40). 218

IV. Neue Literatur.

282. 785.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena — 3539

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

AN INITIAL FINE OF 25 CENTS

WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH DAY AND TO $1.00 ON THE SEVENTH DAY OVERDUE.

DUE NRLF JUN 22 1986

USDA DOC. DELIV. SYSTEM
INTERLIBRARY LOAN
DUE 14 DAYS AFTER RECEIPT

Book Slip—10m-8,'51(6813s4)458